RIJKSLANDBOUWHOGESCHOOL

ACHTSTE JAARLIJKS SYMPOSIUM OVER PHYTOPHARMACIE

8 MEI 1956

COUPURE LINKS
GENT
BELGIË

(Overgedrukt uit "MEDEDELINGEN VAN DE LANDBOUWHOGESCHOOL EN DE OPZOEKINGSSTATIONS VAN DE STAAT TE GENT" 1956. Band XXI, nr. 3

INHOUD

Gewijd aan het Achtste
Jaarlijks Symposium over
Phytopharmacie

8 MEI 1956

RIJKSLANDBOUWHOGESCHOOL

ACHTSTE JAARLIJKS SYMPOSIUM OVER PHYTOPHARMACIE

8 MEI 1956

COUPURE LINKS
GENT
BELGIË

(Overgedrukt uit " MEDEDELINGEN VAN DE LANDBOUWHOGESCHOOL EN DE OPZOEKINGSSTATIONS VAN DE STAAT TE GENT" 1956. Band XXI, nr. 3

INRICHTEND COMITE — COMITE ORGANISATEUR

Voorzitter :

Prof. Ing. J. VAN DEN BRANDE.

Ondervoorzitters :

Prof. Dr Ing. A. VAN DEN HENDE.
Prof. Ing. A. VERBELEN.

Secretaris :

Ing. R. H. KIPS.

Leden: :

Prof. Ing. M. SLAATS.
Prof. Ing. J. VAN HOLDER.
Ing. J. D'HERDE.
Ing. A. GILLARD.
Ing. J. STRYCKERS.
Ing. W. WELVAERT.

BESCHERMLEDEN — MEMBRES PROTECTEURS

Ancapo, N.V., Antwerpen
Belgian Shell Company, Brussel
Belgische Boerenbond, Leuven
Compagnie Anversoise de Produits Chimiques, Antwerpen
Fabriek van Chemische Producten, Vondelingenplaat
„Fertila" J. De Foer-D. & M. Vermeersch, Gent
Glaxo Laboratories Ltd. Stoke Poges
Gorsac N.V., St Truiden
Groupement des Fabricants Belges de Sulfate de Cuivre, Brussel
Ligtermoet & Zoon, N.V., Rotterdam
Murphy Chemical Co, St. Albans
Nourylande N.V., Gent
Philips-Roxane N.V., Amsterdam
Phytosam, N.V., Evere
Pleuger, N.V., Antwerpen
Protex p.v.b.a., Antwerpen
Société Belge de l'Azote, Liège
Société Belge d'Electrochimie, Langerbrugge
Société Chimique de Selzaete, Brussel
Socothera N.V., Brussel
Svalöf Zaaizadenkantoor N.V., Berchem-Antwerpen
Van Ermengem, Leuven

De Vergaderingen der verschillende secties werden voorgezeten door :

Voorzitters :

Prof. A. J. P. Oort, Wageningen.
Prof. Ing. M. Slaats, Gent.
Dr. J. G. ten Houten, Wageningen.
Dr. B. Trouvelot, Versailles.

Ondervoorzitters :

Dr. H. Goffart, Münster.
Ing. M. Simon, Tienen.
Prof. W. E. Van den Bruel, Gembloux.
Dr. F. Willaume, Paris.

TOXICOLOGY OF ORGANIC PHOSPHORUS INSECTICIDES

by

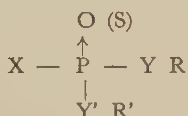
C. Heymans and T. O. King (1)

Department of Pharmacology, University of Ghent, Belgium

Since the introduction of the phosphate esters as insecticides by Schrader (see monograph, 1952) and as war gases, a large number of such compounds have been synthesized and tested for their pharmacological actions and toxicological properties. The organic phosphorus compounds represent, indeed, a new group of toxic chemicals which are becoming increasingly important as agricultural insecticides because of their effectiveness against a variety of harmful insects including many which are resistant to chemicals of the dichlorodiphenyltrichlorethane or DDT-group.

All the organic phosphorus compounds used as insecticides are esters of various phosphorus containing acids which differ from each other according to the valence of the phosphorus atom and the number of oxygen atoms in the molecule.

The compounds of this group all possess the general phosphonate or thiophosphonate structure, as follows :



R and R' are either alkyl or aromatic residues (or H when Y and Y' are carbon); Y and Y' are either O, S, N or C, and X is either an organic or inorganic residue, the chemical or structural nature of which imports moderate instability to the X-P bond.

The trivalent compounds may be derivatives of phosphine (PH_2), phosphinite (H_2POH), phosphonite ($HP(OH)_2$) and phosphite ($P(OH)_3$) in which the hydrogen atoms are replaced by a variety of organic radicles.

Similarly the pentavalent phosphorus acids are phosphine

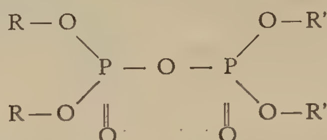
(1) Fulbright Research Fellow, U. S. Educational Foundation in Belgium, 1955-56.

(H_3PO), phosphinate ($H_2PO(OH)_2$) phosphonate ($HPO(OH)_2$) and phosphate ($PO(OH)_3$).

Thirteen classes of the above general type have been described.

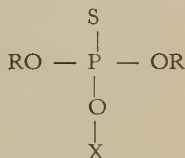
The most important phosphorus compounds used as insecticides and war gases belong to three principal groups, namely the tetraalkyl pyrophosphates, the alkyl phosphorothionates and the phosphoramidic derivatives.

The tetra alkyl pyrophosphates possess the general formula,



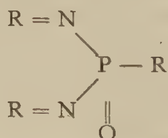
where R may be identical to R'. The most important member of this series is tetraethyl pyrophosphate (TEPP). This compound and hexaethyltetraphosphate (HETP) are the constituants of the preparation „Bladan".

The alkyl phosphorothionates have the general formula,



S and O may be interchanged to provide isomeric forms while R is, in general, an alkyl group and X is an aryl group. The most important members of this series are OO-diethyl- O-p-nitrophenylphosphorothionate (Parathion or Thiophos), diethoxy thiophosphoric acid ester of 2-ethyl mercaptoethanol (Systox), dimethyl p-nitrophenol phosphorathionate (Metacide) and also the preparations Potosan and Malathion.

The phosphoramide derivatives have the general formula



These compounds constitute the most recent addition to the list of organic phosphorus insecticides. The most important members of this group are octamethyl pyrophosphoramide

(OMPA, Schradan, Pestox), di(isopropyl-amino) phosophoro-fluoridate (Isopestox, Mipafox), bis(dimethylamido)-phosphoro-fluoridate (Dimefox).

The most potent organic phosphorus war gases are dimethyl-amidoethoxy-cyano-phosphate (Tabun) and methyl-isopropoxy-fluorophosphate (Sarin).

All these compounds are very active inhibitors of cholinesterase (anticholinestereases) and *in vivo* induce symptoms of intoxication similar to those resulting from accumulation of acetylcholine and from excessive stimulation of the parasympathetic nervous system. The symptoms of intoxication mainly are of cholinergic nature. The *in vitro* and *in vivo* inactivation of blood and tissue cholinesterases by these compounds has been investigated by numerous investigators. Species and tissue difference exist in the sensitivity of cholinesterases to inhibition by the compounds. However, due to its extreme sensitivity ot inhibition by anticholinesterases, serum (mainly non-specific or pseudo-cholinesterase) is generally inhibited first, with only slight systemic effects. Inactivation of the tissue cholinesterase (true or specific cholinesterase) is more significant for the induction and interpretation of the cholinergic systemic effects of the compounds. A most important feature of cholinesterase inactivation is its irreversibility. The low cholinesterase activities after inhibition may persist for 5 to 60 days. Normal values for cholinesterases are regained mainly by synthesis of new enzyme. Several authors have examined the nature of inhibition of cholinesterases by organic phosphorus compounds. Aldridge (1953) suggested that the mechanism of cholinesterase inhibition could be expressed by the equation :

Enzyme-Inhibitor → Reversible Enzyme Inhibitor Complex → Irreversibly Inhibited Enzyme → Products. The inhibitor would be hydrolysed during the inhibitory process. There is a lot of experimental evidence to support this suggestion.

Wilson et al. (1950) postulated a very similar reaction and stated that the active site of the cholinesterase may be conveniently considered as consisting of two subsites :

a) an anionic site which contributes to the catalytic activity by binding and orienting substituted ammonium structures such as that which occurs in acetylcholine;

b) an ester interacting or esteratic site which contains an acidic and a basic group, both of which are necessary for activity. The alkylenzyme reacts rapidly with water to yield a carboxylic acid and free enzyme. The alkyl phosphates function as cholinesterases inhibitors by reacting with the esterase in much the same way as substrates to form, in this case, a dialkylphosphoryl esterase, but unlike the analogous acetylcholine enzyme, the phosphoryl

enzyme does not readily react with water and so the free and active enzyme is not rapidly restored and remains inactive.

It appears also that at least two factors are involved in the efficiency of an organo-phosphorus compound as a cholinesterase inhibitor; its stability to hydrolysis and the particular group attached to the inhibitory process is a phosphorylation of the cholinesterase by the organo-phosphorus inhibitor. Brauer (1948) pointed out that those organo-phosphorus compounds which are anticholinesterases contain an anhydridelike structure.

TABLE I

Properties of organic phosphorus insecticides (1)

Compound	Oral LD_{50} (Rats)	Topical LD_{50} (Rabbits)	m.p. b.p.	Stability
TEPP	2 mg/kg	48 mg/kg	135-138° C/1 mm	Rapid hydrolysis
Paraoxon	2 mg/kg		148-151° C/1 mm	Stable at pH 5-6. Rapid hydrolysis in alkali
Dimefox	5 mg/kg**			
Schradan .... (OMPA)	10 mg/kg**		118-122° C/0.3 mm	Stable in H_2O and alkalies
Parathion ...	15 mg/kg*		157-162° C/0.6 mm	Stable at pH 5-6. Rapid hydrolysis in alkali
Systox	15 mg/kg	24 mg/kg	134° C/2 mm	Hydrolizable by strong alkal[i]
Potosan	25 mg/kg*		m.p. 38° C	Slightly soluble. Stable to H_2O
EPN	40 mg/kg*	30-50 mg/kg	m.p. 36° C	Insoluble. Stable in neutra[l] or acid solutions
Malathion ...	1000 mg/kg		156-157° C/0.7 mm	Stable at pH 5.26. Rapidl[y] hydrolyses at pH above [illegible] and below 5

The pharmacological actions resulting from administration of the organic phosphorus insecticides reflect, above all, their common anti-cholinesterase properties. In addition, their toxic potentialities are modified or enhanced by the physical and chemical characteristics of the individual preparations. Table I lists only a few of the many compounds of this type. When pure, most of them are oily liquids with rather high boiling points and low volatility. Systox, however, has a volatility of 3.5 mg/m³ at 20° compared with 0.09 mg/m³ for Parathion (Martin, 1953). Dimefox has been stated to present the greatest hazard due to its volatility (Barnes, 1953). Once any of these substances has been incorporated into a spray, dust, or aerosol equal precautions must still be taken

* Female rats considerably more susceptible.
** Female rats somewhat less susceptible.
1. Data assembled from Barnes (1953) and Martin (1953).

to minimize the possibility of inhalation or contact with the vapors.

As esters most are hydrolyzed easily in alkaline or acid solutions but can usually be stabilized in aqueous solutions or emulsions at a pH between 5 and 6. The crystalline compounds are nearly insoluble in water. Data for TEPP, Systox and Parathion suggest that most liquid compounds are absorbable through the skin. The problem of contact poisoning in commerce has been solved, in part, by the finding that high-molecular polyethylene-oxyphenol emulsifiers can reduce the cutaneous activity of Systox from an LD_{50} in rabbits of 24 mg/kg to 620 mg/kg (Deichman, Brown & Downing, 1952).

The relative toxicity of these compounds can generally be correlated with their anti-cholinesterase potency. Most compounds such as TEPP are anticholinesterase in their original form as indicated by *in vivo* and *in vitro* comparisons of activity. But others, such as Parathion, Potosan and Schradan are metabolized in the animal organism to active anticholinesterase compounds. Toxic symptoms from the latter compounds may thus be somewhat more slowly developing than in the first group. This difference may be more academic than real because most commercial preparations are of technical grade purity or are composed of mixtures of related phosphorus compounds some of which may be direct and others indirect acting.

The phosphorus insecticides constitute toxic hazards at all levels of production, distribution and use. Contact through handling, inhalation of vapors in the factory, in the farm, or in the green house is a constant danger which cannot be met merely with casual precautions. Repeated case reports of fatal poisonings occuring in the fields, in chemical plants, and in laboratories serve to emphasize this fact (see Abrams, Hamblin & Marchand, 1950, among many collections of poison cases). Furthermore, the problem of the insecticide residues on sprayed fruits and vegetables is ever-present (Lehman, Hartzell & Ward, 1950; Edson, 1956). However, the danger of poisoning from such residues seems negligible according to numerous studies made on the duration of such deposits on fruits and vegetables (see review by Dormal, 1954). The amounts of Parathion deposited on the surface of apples, peaches and pears rarely exceeded 1 p.p.m. (Gunther et al., 1950) and after 2 or 3 weeks decline to less than 0.1 p.p.m. This is far below all officially recommended tolerance limits (Dormal, 1954).

The earliest symptoms arising from spray vapors is usually bronchoconstriction and miosis. This is especially true for HEPT and TEPP although Parathion, in the concentration used in spraying, does not produce miosis or interfere with the light

reflex (Grob, 1950). There is usually a reduction in the activity of the plasma cholinesterase which may be inhibited 20-50% before the appearance of other systemic disturbances (Bidstrup, 1952). Early symptoms arising from sublethal doses such as miosis, salivation, sweating, gastrointestinal pain, nausea and vomiting due to overstimulation of the alimentary tract, bronchoconstriction, increased bronchial secretions, slowing of the heart and other effects are reverable to the sensitization of the parasympathetic receptor cells to the accumulation of acetylcholine. These symptoms due mainly to the *muscarinic* effects of acetylcholine, are usually accompanied by dizziness and, as the poisoning becomes more severe, by weakness, diarrhea, polypnea, pulmonary edema and hypothermia. Ataxia, tremor, drowsiness, and impaired powers of concentration are later nervous system symptoms and may be accompanied by mental confusion, disorientation and slurring of speech (Bidstrup, 1952). Respiratory failure may follow, primarily due to asphyxia resulting from acute bronchoconstriction and central respiratory collapse.

Fasciculations of skeletal muscle as well as convulsions are commonly observed in cases of severe poisoning. These may take the form of twitching of the eyelids and tongue spreading to the muscles of the face and neck and the extra-ocular muscles causing jerking movements of the eyes (Bidstrup, 1952). Coma develops 1-9 hours after the appearance of symptoms with generalized convulsions. Death occurs 1 to 21 hours after the last exposure to Parathion and, on an average, 9 hours after the onset of symptoms (Grob, Garlick & Harvey, 1950).

Although most of the more obvious symptoms of poisoning by these compounds appear to derive from their anti-cholinesterase properties, it must be emphasized that this complete ,,cause and effect'' relationship cannot be extended to all the known actions of the individual drugs. Furthermore, cholinergic phenomena in the central nervous system are poorly understood in spite of the presence of large amounts of the acetylcholinesplitting enzyme in the brain and spinal cord. Very few chemical substances exist, indeed, whose actions are limited to a single pharmacological mechanism (Heymans, 1951).

A serious toxic reaction which has manifested itself and which appears to be unrelated to anti-cholinesterase activity is the development of motor paralysis due to degeneration of peripheral nerves and tracts in the brain and spinal cord. The clinical syndrome resembles that produced by a related compound, TOCP (tri-o-cresylphosphate), long recognized to produce ,,Jake'' paralysis (Berger, 1949). Several years ago *bis*-isopropylaminofluorophosphine oxide (Isopestox) was withdrawn because several persons developed this syndrome from contact with the insecticide

(Davies, 1952). The lesion caused by TOCP is primarily one of demyelination of the peripheral nerves, degenerative changes in the anterior horn cells, and fatty change in the white substance of the spinal cord. Complete recovery may follow but late damage to the pyramidal tracts may appear. TOCP is not used as insecticide but is employed as a plasticizer and also as a gasoline additive. Diisopropylfluorophosphate (DFP) and Parathion have also been shown capable of producing experimental demyelination and paralysis in chickens (Barnes & Denz, 1953).

The only common denominator linking the demeyelinators is the fact that they predominantly inhibit pseudocholinesterase. It has been suggested that the latter enzyme might be involved in myelin metabolism and that inhibition of the enzyme thus produces paralysis (Earl & Thompson, 1952). Subsequent investigations, however, have failed to demonstrate such a direct relationship (Dawson, 1954). The fact remains, however, that recovery of normal pseudo-cholinesterase levels following TOCP is a much slower process than that following most other compounds. Other potent anticholinesterases such as Sarin, Soman and Tabun do not cause experimental demeyelination in chickens, even when the cholinesterase levels are depressed to the same degree as by demyelinating doses of DFP (Davies & Austin, 1953).

The early detection of phosphorus insecticide poisoning is important to prevent the development of possible chronic effects. The most sensitive indicators of exposure are the blood esterase levels which are readily reduced by concentrations of the inhibitor too small to produce the more obvious signs and symptoms. An important difficulty militating against the simplicity of such diagnostic evaluation of depressed cholinesterase activity either in plasma or in red blood cells is the great individual variation from any definable norm. A number of studies have been made to delineate the normal limits of these levels (Callaway, Davies & Rutland, 1952; Wolfsie & Winters, 1952). In the Callaway study the concentrations of the plasma enzyme varied from 57% to 143% of the mean. Because of this variation and the difficulty in correlating depression of cholinesterase activity with toxic symptoms, the value of such determinations has been seriously questioned (Berry, 1953).

Although animals have been maintained with extremely low levels of active cholinesterase without great inconvenience (Heymans & Casier, 1948) and others have not survived the toxic effects of the anticholinesterase even before the enzyme activity was reduced to 50%, there appear to be instances in which blood esterase determinations can be of significant diagnostic value (Marchand, 1952). For instance, monitoring of the effects of the

insecticide on chemical and agricultural workers is made possible by periodic plasma and erythrocyte cholinesterase determinations.

This is important because a subnormal cholinesterase level not only indicates sub-clinical poisoning, but also shows that the individual will be more susceptible to toxic effects from renewed contact with the drug.

In such cases the normal values for each person is previously determined and drops in activity can be easily detected. When the group average is found to fall, an index of exposure is obtained and handling precautions can be regulated accordingly. Cumulative effects from repeated exposure to the insecticide can be detected and differentiation of acute and chronic poisoning can be made. Low plasma cholinesterase values indicate mild acute poisoning. Low red cell values, with normal plasma levels is said to indicate recovery from a previous acute or repeated intoxication. Low values for both plasma and red cell enzymes indicate severe acute intoxication (Marchand, 1952; Davies, 1954).

Full recovery to normal cholinesterase levels is slow. Plasma cholinesterase, first and more severely affected, recovers more rapidly than the red cell enzyme. The latter recovers at the rate of only 1-2% per day and normal values may be regained only after several months. The plasma esterase, on the other hand, may regain up to 40% of its lost activity in the first five days after termination of exposure with full recovery in 3 weeks (Marchand, 1952).

A number of methods are available for determination of cholinesterase (for a review, see Pochet, 1955). Marchand (1952) has described a method for collecting blood from a fingertip, with details of storage, and cholinesterase determination in toxicological cases.

Treatment of Poisoning

The symptoms of poisoning and mechanism of action already described demand rapid and efficient antidotal measures in toxic crises. Atropine, a drug capable of antagonizing the effects of acetylcholine efficiently, blocks those symptoms which are sensitized by the enzyme inhibitors. Gastro-intestinal movements cease, the flow of cholinergic secretions diminishes, bronchoconstriction reverts to dilatation, and the heart rate speeds up. The amount of atropine administered should be in excess of the usual pharmacopoeial dose. It has been recommended that 4 to 6 mg. atropine be administered intravenously or intramuscularly in severe cases of poisoning (Gordon & Frey, 1955). After the initial dose, 2 mg. should be administered at hourly intervals until signs of atropinization appear. Speed of administration and

sufficient doses of atropine are essential to successful therapy. The amount required will depend on the degree of intoxication. The more severe the poisoning the longer delayed will be the signs of atropinization.

It must be emphasized that although atropine is effective in antagonizing most of the muscarinic effects of acetylcholine, it will not antagonize the nicotinic effects, i.e. muscular fasciculations and convulsions. In addition a number of the insecticides cause laryngospasm which is refractory to atropine treatment.

In addition to atropine administration artificial respiration may be essential for the treatment of respiratory failure and general supportive therapy for other symptoms. In cases of acute poisoning, the patient should be removed from the site of the vapors, contaminated clothing removed, and any liquid or powder carefully washed away. Individuals involved in the first aid administrations should also guard themselves against contact with the poison. Bronchial secretions may be aspirated or drained. Atropine, 0.5-1%, or homatropine, 2%, may be instilled in the eye to counteract ocular effects (Gordon & Frye, 1955).

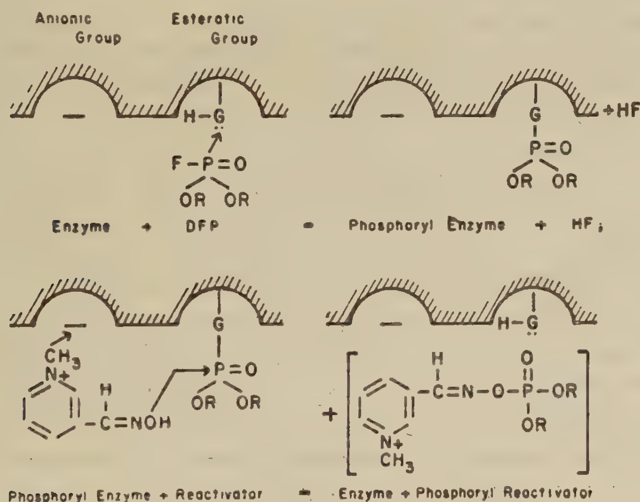


Fig. 1

Enzyme : cholinesterase
D.F.P. : disopropylfluorophosphate (anticholinesterase)
Reactivator : pyridine aldoxine methonium (P.A.M.).

Within the past year a new series of hydroxylamine derivatives has been reported capable of reactivating alkyl-phosphate-inhibited cholinesterases (Wilson & Ginsburg, 1955) and, therefore, active as antidotes in phosphorus insecticide poisoning (Kewitz & Wilson, 1956). The most active compound of this series

was found to be 2-pyridine aldoxime methiodidde (2-PAM). It was shown that this compound, in a dose of 75 mg/kg intraperitoneally, could protect mice against a subcutaneous LD_{50} (0.68 mg/kg) and an LD_{100} (0.9 mg/kg) of Paraoxon. On the basis of body weight, this would be equivalent to a 5 gm. dose in a 70 kg man. However, no human or even higher animal experience with this drug has been reported.

The discovery of this series is important because its suggests a new chemical approach to the problem of breaking the tenacious enzyme-inhibitor complex and to the possible development of effective antidotes which are completely different from atropine and other known anticholinergic compounds.

The mechanism of action is believed to occur by the attachment of 2-PAM to the anionic site on the enzyme which is left intact when the alkyl phosphate combines with the esteratic site on the surface of the esterase. The hydroxylamine group is then believed to react with the phosphate radicle, thus breaking the linkage with the phosphate radicle, thus breaking the linkage with the enzyme and forming an inactive phosphoramide which is excreted (Wagner-Jauregg, 1956) (fig. 1).

A final word must be made with regard to precautions in handling the toxic organo-phosphorus compounds. One cannot be too careful. The following safeguards have been suggested (Grob, 1950) :

1. To reduce absorption through the skin, clean protective clothing is required. Workmen engaged in the manufacture of these insecticides should wear natural rubber gloves, goggles, rubber overshoes and aprons. Plant operators should never wear work clothes home.

2. To reduce absorption through the respiratory tract, formulating rooms should be ventilated by exhaust fans. Persons who spray aerosols in greenhouses and from airplanes should wear full face masks.

3. After removal of protective clothing, personnel should wash arms and face with soap and water.

4. Containers should be promptly burned or washed after emptying. Spilled solutions should be absorbed on sawdust or clay and burned or buried. Afterwards the contaminated area should be scrubbed down with soap and hot water.

1. ALDRIDGE, W. N. — *Biochem. J.* **54**, 442, 1953.
2. BARNES, J. M. — Toxic Hazards of Certain Pesticides to Man. *W. H. O. Monograph Series* N° **16**, Geneva, 1953.
3. BARNES, J. M. & DENZ, F. A. — *Path. Bact.* **65**, 597, 1953.
4. BERRY, W. K. — *Proc. Roy. soc. Med.* **46**, 801, 1953.
5. BERGER, F. M. — *Pharmacol. Rev.* **1**, 243, 1949.
6. BIDSTRUP, P. L. — *Proc. Roy. Soc. Med.* **45**, 572, 1952.
7. BRAUER, R. W. — *J. Pharmacol. Exper. Therap.* **92**, 162, 1948.
8. CALLAWAY, S., DAVIES, D. R. & RUTLAND, J. P. — *Brit. Med. J.* **2**, 812, 1952.
9. DAVIES, D. R. — *Proc. Roy. Soc. Med.* **45**, 570, 1952.
10. DAVIES, D. R. — *J. Pharm. Pharmacol.* **6**, 1, 1954.
11. DAVIES, D. R. & AUSTIN, L. — *Proc. Roy. Soc. Med.* **46**, 802, 1953.
12. DAVISON, A. N. — *Chem. Ind.* 895, 1954.
13. DEICHMAN, W. B., BROWN, P. & DOWNING, C. — *Science* **116**, 221, 1952.
14. DORMAL, S. — *Parasitica* **10**, 60, 1954.
15. EARL, C. J. & THOMPSON, R. H. S. — *Brit. J. Pharmacol.* **7**, 261, 285, 1952.
16. EDSON, E. F. — Personal communication, 1956.
17. GORDON, A. S. & FRYE, C. W. — *J. Am. Med. Ass.* **159**, 1181, 1955.
18. GUNTHER, F. A., BARNES, M. M., CARMAN, G. E. & EWART, W. H. — *Advances in Chemistry* **1**, 112, 1950.
19. GROB, D. — *J. Am. Med. Ass.* **144**, 105, 1950.
20. GROB, D., GARLICK, W. L. & HARVEY, A. M. — *Bull. John Hopkins Hosp.* **87**, 106, 1950.
21. HEYMANS, C. & CASIER, H. — *Arch. Intern. Pharmacodyn.* **77**, 64, 1948.
22. HEYMANS, C. — Les substances anticholinestérasiques. Exposés Annuels Biochimie. Masson et C°, Paris, 1951.
23. HEYMANS, C., POCHET, A. & VAN HOUTTE, H. — *Arch. int. Pharmacodyn.* **104**, 293, 1956.
24. KEWITZ, H. & WILSON, I. B. — *Arch. Biochem. & Biophys.* **60**, 261, 1956.
25. LEHMAN, A. J., HARTZELL, A. & WARD, J. C. — *J. Am. Med. Ass.* **144**, 105, 1950.
26. MARCHAND, J. M. — *J. Am. Med. Ass.* **149**, 738, 1952.
27. MARTIN, H. — Guide to the Chemicals used in Crop Protection. Canada Department of Agriculture, London, Ont. 1953.
28. POCHET, A. — *J. Pharm. Belg.* 339, 1955.
29. SCHRADER, G. — Die Entwicklung neuer Insekticide auf Grundlage organischer Fluor- und Phosphor Verbindungen, Monographie 62, Z. Aufl. Verlag Chemie, 1952.
30. WAGNER-JAUREGG, T. — *Arzneim. Forsch.* **6**, 194, 1956.
31. WILSON, I. B., BERGMANN, F. & NACHMANSOHN, D. — *J. Biol. Chem.* **186**, 693, 1950.
32. WILSON, I. B. & GINSBURG. S. — *Biochem. & Biophys.* Acta **18**, 168, 1955.
33. WOLFSIE, J. H. & WINTERS, G. D. — *Arch. Indust. Hyg. Occup. Med.* **6**, 43, 1952.

THE PRESENT STATE OF FUNGICIDE RESEARCH *

by

G. J. M. van der Kerk

Director of the Institute for Organic Chemistry T.N.O., Utrecht, the Netherlands

When considering the field which occupies us to-day one is allowed to say that up to now the purely logical approach has scarcely been successful. In spite of the greatly enlarged theoretical insight nobody is yet able to predict from the chemical structure of a compound its biological effects, *e.g.* selective fungitoxicity. It may be true that by systematic variation of certain chemical structures rules are found which enable future attempts to be carried out along more rational lines. It is true also that the primary observation of such biological effects as a rule is not based on a rational approach. One is likely to speak then of ,,accidental observations'' or of the ,,chance factor''. In my opinion, however, we do an injustice to those who are occupying themselves with this first phase of any work directed towards finding new physiologically active structures. Rather has one to admit that discoveries of this type usually are based on knowledge also of distant domains of the natural sciences, on a keen intuition and on the ability to make cross-links between apparently unrelated fields. As an example the development of the dialkyldithiocarbamates as fungicides may be recalled.

In the middle of the 19th century it had been found that elementary sulphur causes a peculiar change in the properties of rubber, a process which is well-known to-day as vulcanization. Next, it appeared that the vulcanization of mixtures of rubber and sulphur could be accelerated strongly by the addition of amines. This observation led to the idea to try the effect of organic compounds containing both sulphur and nitrogen in the molecule. A systematic investigation of the many possibilities resulted between 1910 and 1930 among others in the development of a group of compounds which combined the properties of a vulcanizer and a vulcanization accelerator : the dithiocarbamates and the thiuram sulphides. When Tisdale and Williams conceived the idea to improve the well-known

*) Lecture given at the plenary session of the 8th Annual Symposium on Crop Protection, Ghent.

TABLE I

Group	Formula of the most important representative	General indication
Dimethyldithio-carbamates	$(CH_3)_2N–C(=S)–S–S–C(=S)–N(CH_3)_2$	Thiram
	$(CH_3)_2N–C(=S)–S–metal$	Ferbam, ziram
Ethylene bisdithiocarbamates	$CH_2–NH–C(=S)–S$ \ metal | $CH_2–NH–C(=S)–S$ /	Nabam, zineb, maneb
Quinones	O ‖ C ClC CCl ‖ ‖ ClC CCl C ‖ O	Chloranil (spergon)
	H O C C HC C CCl | ‖ ‖ HC C CCl C C H ‖ O	Dichlone (phygon)
Trichloromethyl-mercapto compounds	H_2 O C C HC H C ‖ | HC C $N–SCCl_3$ H C C H_2 ‖ O	Captan
Imidazolines (glyoxalidines)	H $CH_2–N$ | $C–C_{17}H_{35}$ $CH_2–N$	Glyodine
Tetrahydro-pyrimidines	CH_3 | CH HN CH_2 | | CH	

biocidal action of elementary sulphur and of inorganic sulphur compounds by incorporating this element into organic structures, their attention was drawn to the organic sulphur compounds already adopted by the rubber industry. The derivatives of dimethyldithiocarbamic acid, the first and the simplest member of the series of available dithiocarbamates, proved to be effective in an almost ideal way. It must be added that since then *ratio* has not brought us any further. In spite of many efforts it has not been possible to find structural variants the usefulness of which surpasses or even equals that of the dimethyl compounds. Only about 10 years later a group of similarly effective dithiocarbamates was disclosed. This group—the bisdithiocarbamates—is, however, of a distinctly different structural type.

When in 1948 my colleague Klöpping wrote a survey entitled : ,,Organic compounds with fungicidal action'' (28) this contained a list with about 500 references. It appeared that scarcely any type of organic structure exists which does not contain representatives showing appreciable fungitoxicity. Nevertheless, the number of compounds which up till now have found practical application is exceedingly small.

In table I a summary has been given of those organic fungicides which during the last 25 years have reached agricultural praxis, or which are likely to do so in the future.

This enumeration, admittedly, is not complete. The organo-mercury compounds which at present are in frequent use, have not been mentioned since I want to confine myself to compounds the activity of which is dependent on an organic structure. Further, certain other types of interesting compounds such as the chlorinated hydrocarbons and the phenol derivatives have not been mentioned (*e.g.* the chloronitrobenzenes, 8-hydroxyquinoline and the nitrophenyl crotonates). Antibiotics and systemic compounds are not mentioned either. Otherwise, these two latter categories fall outside the scope of this more or less chemical enumeration. It may be said, however, that table I contains the most important present-day types of synthetic organic fungicides with protective action.

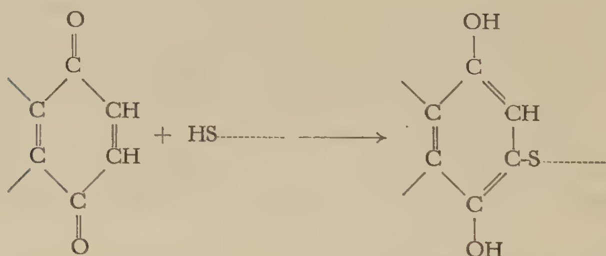
Although it is my intention to discuss the field of organic fungicides in a more or less general way I can not resist the temptation to enter somewhat further into certain parts. There are several reasons why I have chosen the dithiocarbamates and related compounds for that purpose. In the first place one may state that this oldest group of agricultural fungicides quantitatively still has a leading position. Secondly, just recently some new variants of the dithiocarbamate structure have been developed which hold interesting promises with regard to practical application. Finally—

and you may forgive me for that—the dithiocarbamates have my strong personal preference since my colleagues and I, partly in cooperation with other investigators have studied this group extensively.

Before going into that I shall discuss briefly the remaining types of compounds mentioned in table I.

The quinones

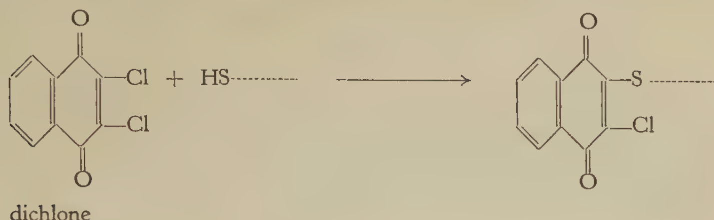
Quinones are encountered in almost overwhelming diversity in higher and lower plants. Many fungal species form colouring matters which are derived from benzo- and naphthoquinone. It is generally accepted that these quinones play a part in the oxido-reduction processes of the organisms concerned, although it must be remarked that optimal pigment production in general occurs under unphysiological conditions. Most of the quinones exert a greater or smaller biocidal action and many of the naturally occurring quinones, therefore, can be reckoned amongst the antibiotics. Since it has been observed that under physiological conditions quinones react readily with SH-compounds and further, that the latter compounds have a strongly antagonistic action, the view has been accepted that quinones act by a rather unspecific blocking of SH-enzymes in the cell. Complete substitution of the quinone nucleus (*e.g.* with OH, O-alkyl or alkyl) reduces the biocidal activity very strongly. It has been supposed, therefore, that quinones not only inactivate SH-groups oxidatively but that they also react in the following way :



This reaction does not succeed unless at least one place in the quinone nucleus is unsubstituted.

It certainly is remarkable that the only synthetic quinones which have found practical application, *viz.* tetrachlorobenzoquinone („chloranil") and 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone („dichlone") (10, 20) constitute an exception to this rule. These quinones also, however, are antagonized by SH-compounds and

it has been shown that in this case the reactive chlorine is directly substituted :

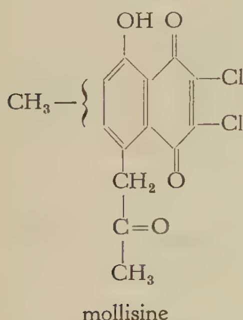


dichlone

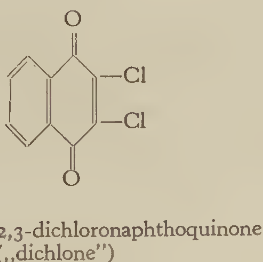
These compounds are applied on a large scale as seed dressings. The fact that they are less suitable as foliage fungicides undoubtedly is connected with the photolability of quinones in general.

An interesting discussion on the relation between fungitoxicity and chemical structure with derivatives of 2,3-dichloronaphthoquinone has been given by Byrde and Woodcock (4).

When speaking of these synthetic chlorinated quinones which are typical artefacts, I can not resist the temptation to give a striking example of the ever surprising versatility of nature. Recently, Gremmen (17) has described a number of new *Mollisia* species, fungi belonging to the discomycetes which mainly develop on wood. These moulds, when cultivated on a nutrient medium, form a yellow crystalline compound, called „mollisine", with strongly antibiotic properties. At Utrecht we have isolated mollisine in a pure form and my colleague Overeem has investigated its chemical structure. The compound has the composition $C_{14}H_{10}O_4Cl_2$ and contains organically bound chlorine. Details will be omitted here and it may be mentioned only that mollisine is a derivative of 2,3-dichloronaphthoquinone, probably having the following structure



mollisine



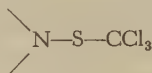
2,3-dichloronaphthoquinone („dichlone")

At present the only uncertainty is the position of a methyl group. The fungitoxicity values of mollisine and of dichlone are of the same order of magnitude.

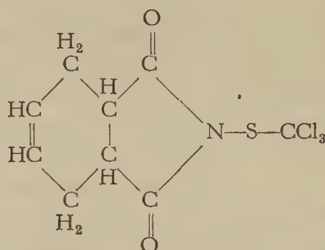
The trichloromethylmercapto compounds

These compounds are characterized by the presence of the group

It is the merit of Kittleson (27) first to have drawn the attention to the high fungitoxicity of this structure. Moreover, he succeeded in introducing this group into structures which are appreciably more stable than those known until then. His compounds have in common the structural element



The product which up till now has proved to be outstanding from a practical point of view is N-(trichloromethylthio)-tetrahydrophtalimide :



N-(trichloromethylthio)-
tetrahydrophthalimide ,,Captan"

When investigating the biochemical mode of action of this compound Hochstein, Cox and Sisler (18) showed that captan disturbs carbohydrate metabolism in conidia of *Fusarium roseum*. In the presence of captan pyruvic acid is accumulated in the medium. The authors assume that captan affects metabolism by blocking essential decarboxylation reactions in which thiamine pyrophosphate is acting as a co-enzyme. Meanwhile, it must be pointed out that accumulation of pyruvic acid is a rather unspecific consequence of the presence of widely divergent types of toxicants (*e.g.* arsenite). At Utrecht we found (24) that also sodium dimethyldithiocarbamate has this same effect. The fungitoxic action of the latter compound can, however, certainly not be explained on this basis.

The process for the manufacture of captan is closely connected with an industrial process of quite a different type, *viz.* the production of synthetic rubber based on the hydrocarbon butadiene. It is, therefore, scarcely surprising that, especially

in Europe, attempts have been made to develop products equivalent to captan for which the raw material mentioned above is not required. In this respect two developments which deserve our attention have been described recently.

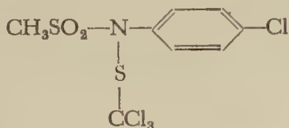
During the 1955 congres on Pure and Applied Chemistry at Zürich Uhlenbroek (N.V. Philips-Roxane) has disclosed a new group of trichloromethylmercapto compounds, the trichloromethylthiolsulfonates (see 48), possessing the general structure :

$$R—SO_2—S—CCl_3$$

In this formula R represents a substituted or non-substituted aliphatic or aromatic group. Of special importance was the observation that with the aromatic compounds introduction of a carboxylic group into the para position led to an appreciably diminished phytotoxicity :

Fungitoxicity, on the contrary, appeared to be almost independent of the nature of R.

Variants of a second type have been described by Waeffler, Gasser, Margot and Gysin (49). These workers investigated sulphonamide derivatives substituted in the sulphonamide group by the group $-S-CCl_3$. The most promising compound obtained so far is „mesulfan" :



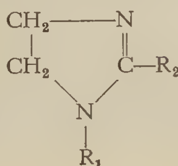
methanesulphane-N-trichloromethylthio-
4-chloroanilide „mesulfan"

Good results are reported with this compound against mildew on grapes and against scab on apple trees (*Venturia inaequalis*).

General features of all trichloromethylmercapto derivatives described seem to be a low mammalian toxicity and a low phytotoxicity.

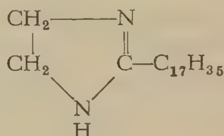
Imidazolines (glyoxalidines)

In 1946 Wellman and McCallan (51) introduced an interesting new group of fungicides with the general structure :



Whereas the simplest representative of this group, imidazoline (R_1 and R_2 = H), is almost inactive, fungitoxicity increases rapidly with increasing length of the alkyl group R_2. Maximal fungitoxicity occurs if R_2 contains 13 to 17 carbon atoms. Also phytotoxicity becomes greater with increasing size of R_2 but in this case the optimum is reached at 11 to 13 carbon atoms. Undoubtedly this difference depends on differences in selective permeability between leaf tissues on the one side and fungus spores and mycelium on the other.

In practice 2-heptadecyl imidazoline („glyodin")



is used nowadays as a typical foliage fungicide.

Recently West and Wolf (52) have found that the action of glyodine towards *Sclerotinia fructicola* is antagonized competitively by the purine derivatives guanine and xanthine, but not by other purines. They assume, therefore, that glyodin interferes with the biosynthesis of guanine and xanthine.

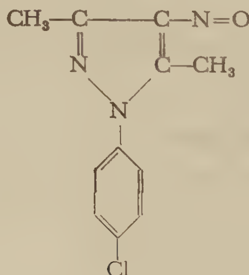
Closely related to the imidazolines are the

Tetrahydropyrimidines

Here also, introduction of a C_{17} side chain leads to optimal activity. The application possibilities seem to be almost identical with those of the foregoing group (40).

Nitrosopyrazoles

This remarkable group of compounds was introduced in 1949 by McNew and Sundholm (35). Maximal activity was found with 1-*p*-chlorophenyl-3,5-dimethyl-4-nitrosopyrazole :



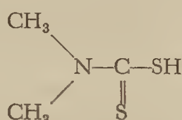
The nitrosopyrazoles are recommended as foliage fungicides and as seed dressings. Chemical stability is, however, not very high.

Certain derivatives are reported to act systemically. This group of compounds seems certainly interesting but, as far as is known at present, has not yet found any significant practical application.

The dithiocarbamates

Exactly 25 years ago in the U.S.A. a patent application was filed which would become of far-reaching significance for the field of crop protection. I have in mind the now almost classical application of Tisdale and Williams in 1931, describing the antimicrobial action of the lower dialkyldithiocarbamates on which a patent was obtained in 1934 (47).

Only a few words will be said of these dialkyldithiocarbamates. As mentioned before both investigations elsewhere and at our Institute have led to the conviction that the derivatives of dimethyldithiocarbamic acid



are optimal in this series. It can safely be said that any change of this basic structure usually results in a strong decrease in fungitoxicity (see for a discussion on this subject (25)). Whereas in this group the structural relations are quite clear, the reverse is true for the explanation of the biochemical mode of action. Since the latter subject is not directly related to any practical application of these compounds the present insight into the mode of action will be referred to only very briefly (see for a recent discussion (23)).

Very small amounts of sodium dimethyldithiocarbamate (about 0.5 p.p.m.) are already growth-inhibiting if traces of copper are present also. Primarily the dimethyldithiocarbamate ion forms with this metal a very reactive 1 : 1 complex which attacks fungal metabolism at a vital point (first zone of growth inhibition). Which enzymes in particular are concerned is not yet known. At somewhat higher concentrations of the dithiocarbamate the reactive complex unites with the surplus of dimethyldithiocarbamate ions instead of with the cell enzymes. Or, expressed otherwise, these ions compete with the enzymes for the 1 : 1 dimethyldithiocarbamate-metal complex. Thus, from the primary reactive metal complex a second, less or non-reactive 2 : 1 complex, is formed the growth-inhibiting activity of which is much less. Consequently, within a certain range of concentrations (in most cases 10 to 20 p.p.m.), after the first zone of inhibition growth occurs again (zone of „inversion growth", a phenomenon well-known from the dithiocarbamate literature). At still higher concentrations of sodium dimethyldithiocarbamate (50 p.p.m.

and higher) growth is again inhibited (second zone of growth inhibition). This inhibition is not caused by a metal complex but by the free dimethyldithiocarbamate ions. Here also it is not yet known which enzym systems in particular become affected.

A publication on these matters is now in press.

I shall dwell at some length on a second group of dithiocarbamates. The prototype of this group is sodium ethylenebisdithiocarbamate („nabam")

introduced in 1943 by Dimond, Heuberger and Horsfall (16). Their communication : „A water soluble protectant fungicide with tenacity" at present can be regarded as one of the „classics" in the literature on organic fungicides.

In practice up till now this type has mainly been applied as the zinc salt („zineb") and the manganous salt („maneb").

The essential difference between compounds of the present type and the dialkyldithiocarbamates is not that the first contain two and the last only one dithiocarbamate group. From table II it appears that this difference in fact is not essential.

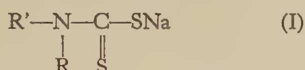
TABLE II

Fungitoxicity of structurally related dithiocarbamates and bisdithiocarbamates

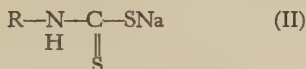
Nr.	Compound	Growth-inhibiting concentration in p.p.m. (mg per l). Substrate : glucose-mineral salts agar; pH 6.5			
		Botrytis allii	*Penicillium italicum*	*Aspergillus niger*	*Rhizopus nigricans*
1	$CH_3{-}N(CH_3){-}C(=S){-}SNa$	0.2	0.2	10	0.2
2	$CH_3{-}NH{-}C(=S){-}SNa$	1	2	20	100
3 idem	$CH_2{-}N(CH_3){-}C(=S){-}SNa$	50	50	1000	1000
4 idem	$CH_2{-}NH{-}C(=S){-}SNa$	1	0.5	2	10

Compound 3 which chemically can be taken as a simple doubling of the very active sodium dimethyldithiocarbamate 1 is almost inactive. Compound 3 can, however, also be considered as a methylated disodium ethylenebisdithiocarbamate 4. In this case it is clear that replacement of the hydrogen atoms at the nitrogen by methyl groups causes a very considerable reduction in activity. The change from the dimethyldithiocarbamate 1 to the methyldithiocarbamate 2, on the other hand, is also coupled with decreasing activity. From this, already, it follows that the two very active dithiocarbamate structures 1 and 4 exert their fungitoxic action in different ways. Consequently, the structural factors which determine the fungitoxicity of the bisdithiocarbamates are completely different from those which are of importance in the group of the dialkyldithiocarbamates. Apart from differences of a secondary nature which shall be mentioned later on, the primary difference is whether or not free hydrogen occurs at the nitrogen. We shall see that there are reasons to assume that all variants of the dithiocarbamate structure which still contain hydrogen at the nitrogen exert their toxic action in a corresponding way.

After all, the essential point was that Horsfall *et al* (16) introduced in 1943 besides the already existing type of dithiocarbamates



the new type



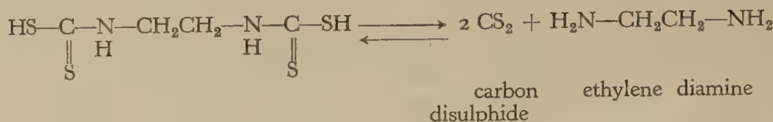
A consequence of this structural change is a reduced chemical stability. From the start on it has been attempted to explain the high fungitoxicity of the bisdithiocarbamates on the basis of their chemical instability, by making certain decomposition products responsible for the fungitoxic action.

When, very generally, considering such attempts to correlate the toxic action of a certain compound with the toxic action of decomposition or conversion products the following must be kept in mind. Firstly, this merely means a shifting of the problem unless at the same time an explanation can be given for the biochemical action of these products. Secondly, the activity—in our case the fungitoxicity—of the decomposition or conversion product should at least equal that of the parent compound. Finally, no qualitative differences should exist, in other words the antifungal spectra must be identical.

Under physiological conditions several different products can be formed from ethylene bisdithiocarbamates :

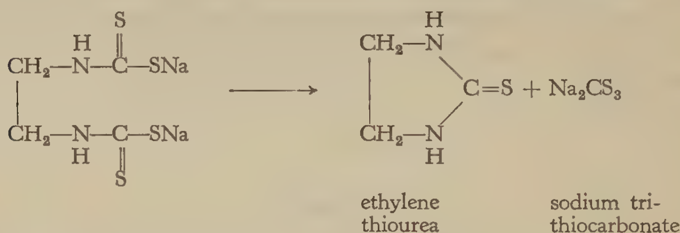
1. Free ethylenebisdithiocarbamic acid, owing to hydrolysis

always being present in small amounts in nabam solutions, can decompose as follows :



Parker-Rhodes (36) ascribed the action of nabam to the toxicity of carbon disulphide and of ethylene diamine. These products are, however, of low activity and show a completely different antifungal spectrum. In this connection an investigation of Cox, Sisler and Spurr (5) may be mentioned. They found that the gaseous products CS_2 and ethylene diamine, escaping from a nabam solution, separately are of low fungitoxicity but that they are mutually synergistic. The logical explanation for this ,,synergistic'' action seems to be the recombination of the inactive decomposition products to the active bisdithiocarbamate, according to the reaction equation given above.

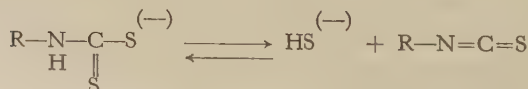
2. From a nabam solution ethylene thiourea can be formed :



Neither this product can explain the action of nabam as appears from a recent investigation of Rich and Horsfall (41). These authors found, moreover, that the almost inactive ethylene thiourea becomes more fungitoxic by alkylating one or both of the NH-groups. This is exactly the reverse of what happens with nabam.

3. It is a well-known fact that dithiocarbamates bearing free hydrogen at the nitrogen atom can split off H_2S or the H $S^{(-)}$-ion with formation of *iso*thiocyanate groups :

or



This decomposition occurs very easily in the presence of the ions of heavy metals, since in this case insoluble metal sulphides are formed and the equilibrium is forced to the right.

Whereas the decomposition products of nabam mentioned under 1 and 2 are of low antifungal activity we found that alkylene di*iso*thiocyanates show exceptionally high activity (30). Moreover, the antifungal spectra of corresponding dithiocarbamates and *iso*thiocyanates were almost identical. This led to the assumption that the fungitoxic action of the dithiocarbamates under consideration is due to their conversion *in situ* into the corresponding *iso*thiocyanates. This conversion is possible only if the nitrogen atom still carries hydrogen. In agreement with this requirement one finds that alkylation at the nitrogen almost nullifies the activity of this type of compounds (compare table II).

The view that ultimately *iso*thiocyanate groups are the active agent was strengthened by a closer study of the biochemical action of bisdithiocarbamates and di*iso*thiocyanates (22). We found that the fungitoxic action of both groups of compounds is antagonized by adding sulphhydryl compounds to the culture medium. This antagonizing effect is shown in fig. 1 for the combination nabam and cysteine.

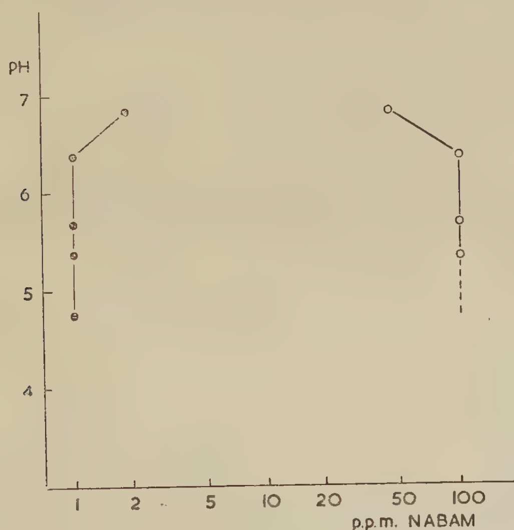


Fig. 1. — Effect of the addition of cysteine on the fungitoxicity of nabam at different pH values.
P. italicum, incubation period 4 days.
— . — . — . — nabam
— o — o — o — nabam + 0.05% cysteine

A similar result was obtained with the combination tetramethylene di*iso*thiocyanate and cysteine (*).

That a free SH group is essential for the antagonizing action followed from experiments with thioglycolic acid and its oxidation product dithioglycolic acid in combination with nabam (fig. 2).

(*) Tetramethylene instead of ethylene di*iso*thiocyanate was used because of the low chemical stability of the latter compound.

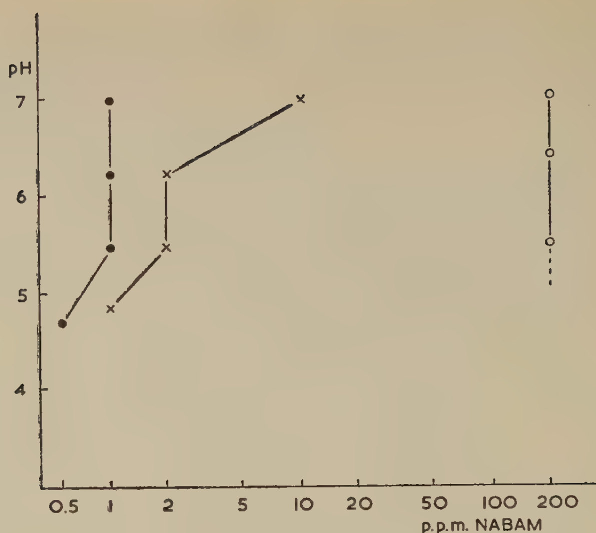


Fig. 2. — Effect of the addition of thioglycolic acid ($HSCH_2COOH$) and of dithioglycolic acid ($HOOCCH_2SSCH_2COOH$) on the fungitoxicity of nabam at different pH values.
P. italicum, incubation period 4 days.
— . — . — . — nabam
— o — o — o — nabam + 0.05% thioglycolic acid
— x — x — x — nabam + 0.05% dithioglycolic acid

Fig. 3 shows the competitive character of the antagonistic effect of cysteine on the fungitoxicity of nabam.

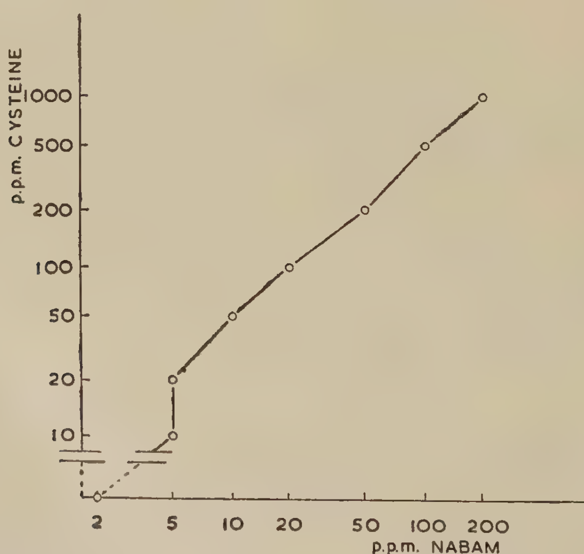
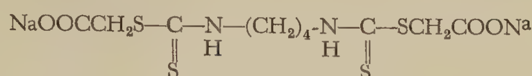


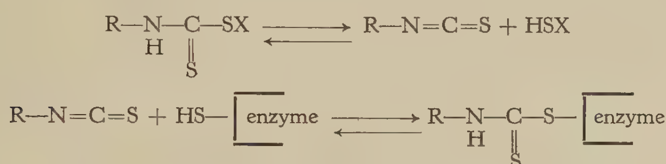
Fig. 3. — The competitive nature of the antagonistic effect of cysteine on the fungitoxicity of nabam.
P. italicum, incubation period 4 days; pH 5.5.

Finally it was found that the *in vitro* reaction product of tetramethylene di*iso*thiocyanate and thioglycolic acid :



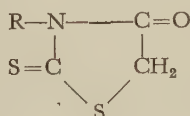
towards *P. italicum* is about 1000 times less active than tetramethylene di*iso*thiocyanate itself.

All these observations led to the conclusion that the fungitoxic action of the dithiocarbamates under consideration—and *a fortiori* that of the *iso*thiocyanates—is due to the chemical inactivation by *iso*thiocyanate groups of biochemically important thiol systems within the cell. Several hydrolysing as well as oxydation-reduction enzymatic systems are known, the activity of which is dependent on the presence of free SH groups in the enzyme (45). Thus the following schematical picture can be given :

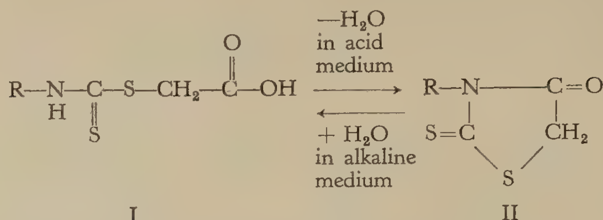


Among other things the relative stabilities of R—N(H)—C(=S)—S—[enzyme] and of R—N(H)—C(=S)—SX shall determine whether a certain dithiocarbamate of this type can interfere with a certain enzyme function.

The work dealing with the mode of action of the bisdithiocarbamates has been discussed rather extensively. The reason for this is that during the last years a few interesting variants have been described, the relation of which to the bisdithiocarbamates may not be clear at once. In the first place I have in mind the group of the rhodanines, about which I had the pleasure to report in 1953 on this same Symposium (26). This group of compounds has been developed almost simultaneously by Stauffer Chemical Cy. (U.S.A.) and by our Institute. Their general structure can be represented by the formula :



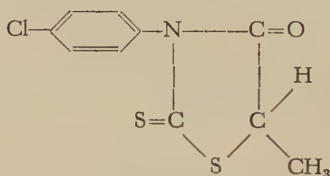
To see the close relationship with the dithiocarbamates one must realize the following reactions :



The open product I is formed by coupling a dithiocarbamate with the sodium salt of monochloroacetic acid.

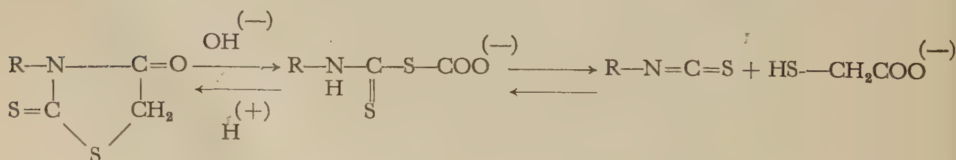
On acidification ring closure occurs with formation of the rhodanine II which carries a substituent R at the nitrogen.

Now, fungitoxicity of the rhodanines appeared to be strongly dependent on the nature of the substituent R. If R is an aliphatic group (methyl, ethyl *etc.*) the activity of the compounds is very low. However, when introducing a benzene nucleus which contains, moreover, certain substituents (NO_2, Cl, a second rhodanine group *etc.*), very active compounds are obtained. One of the most active compounds is 3-(*p*-chlorophenyl)-5-methyl rhodanine



which, under the code number N 244 (Stauffer), recently has aroused some attention as a fungicide and a nematicide.

Spectroscopic measurements, carried out at our Institute, have shown that in dilute solutions of N-substituted rhodanines at physiological pH values (about 7) the following equilibria occur :



Whereas solutions of rhodanines showing low fungitoxicity —like those of the corresponding open compounds—are perfectly stable under these circumstances, a distinct shift to the right is observed in solutions of the active compounds. As an example

the spectroscopic results are shown obtained with 3-(*p*-chlorophenyl)rhodanine, a compound which is closely related to the N 244 mentioned above (fig. 4)

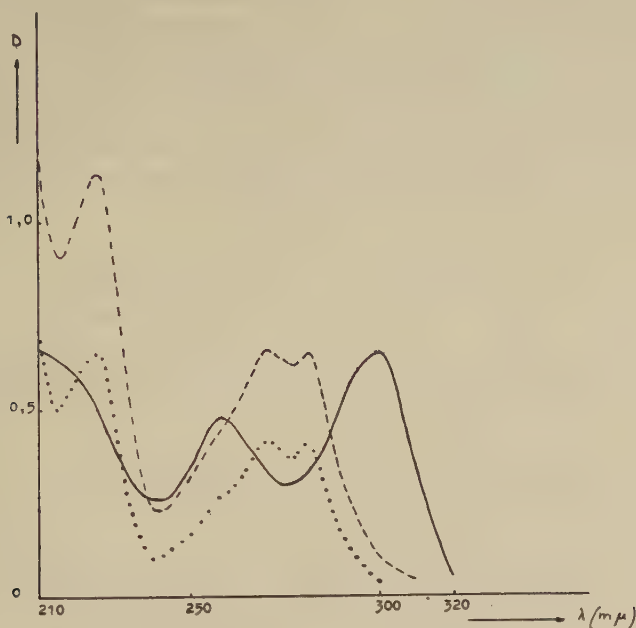


Fig. 4. — Conversion of 3-(*p*-chlorophenyl)rhodanine into *p*-chlorophenyl *iso*thiocyanate in aqueous-alcoholic solution at pH 7.

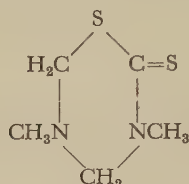
.... $2{,}5 \times 10^{-5}$ M *p*-chlorophenyl *iso*thiocyanate
________ $4{,}0 \times 10^{-5}$ M 3-*p*-(chlorophenyl)-rhodanine
_ _ _ _ after 24 hours

It appears that after 24 hours a dilute solution of 3-(*p*-chlorophenyl)rhodanine does no longer show the characteristic spectrum of the starting material but exhibits a different spectrum which is identical with that of *p*-chlorophenyl *iso*thiocyanate. From the extinction values found it appears, moreover, that the conversion of the rhodanine into the *iso*thiocyanate nearly has run to completeness.

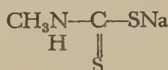
Thus it has been possible to demonstrate that certain rhodanine derivatives—compounds which are closely related to the bisdithiocarbamates—under physiological conditions are transformed into *iso*thiocyanates. That the fungitoxic action of the rhodanines is antagonized by SH compounds, in the same way as has been described for the bisdithiocarbamates and the *iso*thiocyanates, is scarcely surprising. For the three groups of compounds : the bisdithiocarbamates (or, more generally, the dithiocarbamates containing hydrogen at the nitrogen), the

*iso*thiocyanates and the N-substituted rhodanines, which at first sight are only remotedly related, the same mode of action must be accepted. In each of these cases the presence or the formation of *iso*thiocyanate groups, which react chemically with essential SH systems within the cell, is the immediate cause of the fungitoxic action.

Two other compounds which recently have drawn considerable attention fit entirely into this pattern : 3,5-dimethyl-tetrahydro-1,3,5,2H-thiadiazine-2-thione (code number N 521 of Stauffer Chemical Cy) and sodium methyldithiocarbamate („vapam", also of Stauffer)



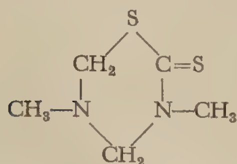
3,5-dimethyltetrahydro-1, 3,5,2H-thiadiazine-2-thione „N 521"

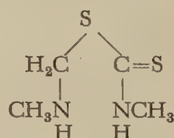


sodium methyl-dithiocarbamate „vapam"

Both compounds, especially „vapam" are recommended as „fumigants" against soil fungi and soil insects and against nematodes.

Although the fungitoxicity of these compounds is not very high both exhibit antifungal spectra which are similar to those of the *iso*thiocyanates, *etc.* Moreover, both compounds are antagonized by SH compounds. In both cases we hold the volatile methyl *iso*thiocyanate (b.p. 119° C) responsible for the toxic action. Stauffer remarks about „vapam" : „,... In the soil it generates a penetrating gas, fumigates the soil with broad killing effect ...". At first sight N 521 does not seem to belong to this group of compounds since the nitrogen in the molecule is completely substituted by carbon atoms. It is a well-known fact, however, that a CH_2 group between two amino-nitrogens is easily removed hydrolytically :



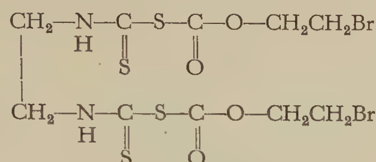


(methylamino) - methylester of methyl dithiocarbamic acid

In this way a compound containing a potential *iso*thiocyanate group is formed again.

For the sake of completeness a few other structural variants are mentioned here which recently have been developed in the U.S.A.

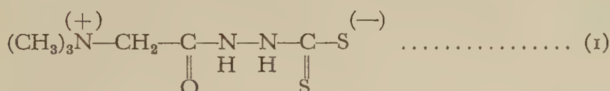
Williams and Graham (53) prepared a series of substitution products of nabam which are described to be ,,highly active as foliage fungicides''. The following compound may serve as a prototype :

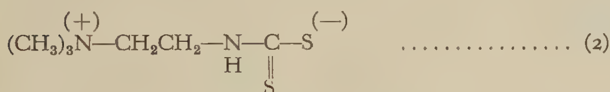


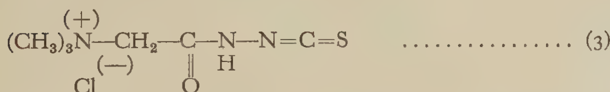
This compound has been prepared by coupling nabam with β-bromoethanol chlorocarbonate

The authors themselves attribute the activity to the ,,release of highly fungitoxic alkylene di*iso*thiocyanates and alcohols or phenols''.

A second group of new compounds of a very interesting structural type has been described in three recent patents by Klöpping (31). The formulae of a few prototypes are given below :





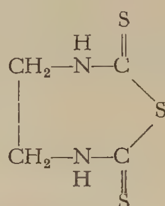


The structures of compounds 1 and 2, again, are such that the formation of *iso*thiocyanate groups is possible. In compound 3 this group is already present as such. The most characteristic feature of these compounds is the presence of a quaternary nitrogen atom in addition to the fungitoxic group. Data regarding the application possibilities of these compounds are not yet available.

The most interesting variant of the usual type of bisdithiocarbamates, in my opinion, is likely to emerge from the series of excellent investigations of Ludwig and Thorn *et al.* (32, 33, 34, 46) on the mode of action of nabam.

Ludwig and Thorn looked for an explanation of the incomprehensible tenacity of the water-soluble nabam. By

aerating dilute nabam solutions they were able to obtain several compounds of low water solubility. One of these compounds was isolated in a pure form and could be identified as ethylenethiuram monosulphide :



ethylenethiuram monosulphide

This compound showed high fungitoxicity and L u d w i g and T h o r n assumed that its formation (and that of similar compounds) could explain the high activity of nabam.

At Utrecht also we have investigated these compounds. Table III shows test results with nabam, ethylene di*iso*thiocyanate and ethylenethiuram monosulphide.

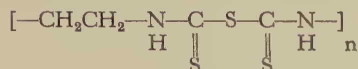
TABLE III

Fungitoxicity of nabam and related compounds in glucose agar; pH 6.5. Incubation period 2 days

Compound	Minimum concentration in p.p.m. causing complete growth inhibition			
	Botrytis allii	*Penicillium italicum*	*Aspergillus niger*	*Rhizopus nigricans*
Nabam	1	0.5	2	10
Ethylene di*iso*thiocyanate.........	0.05	0.02	0.05	10
Ethylenethiuram monosulphide....	0.5	0.5	1	5

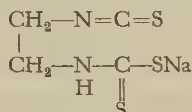
The great similarity between these compounds is evident. Moreover, they are antagonized by SH compounds in much the same way. Whereas we agree completely with L u d w i g and T h o r n as far as their explanation of the tenacity of nabam is concerned -*viz.* the formation of slightly soluble ethylenethiuram monosulphide and related compounds- we maintain our view that the activity of all these compounds is due to the formation of reactive *iso*thiocyanate groups. Meanwhile the said authors have also accepted this point of view.

In the foregoing reference has been made to other insoluble compounds obtained by L u d w i g and T h o r n. When aerating nabam solutions in addition to ethylenethiuram monosulphide a compound was isolated possessing the same molecular composition but a much higher molecular weight. This compound most probably is a polyethylenethiuram monosulphide with the following general structure :

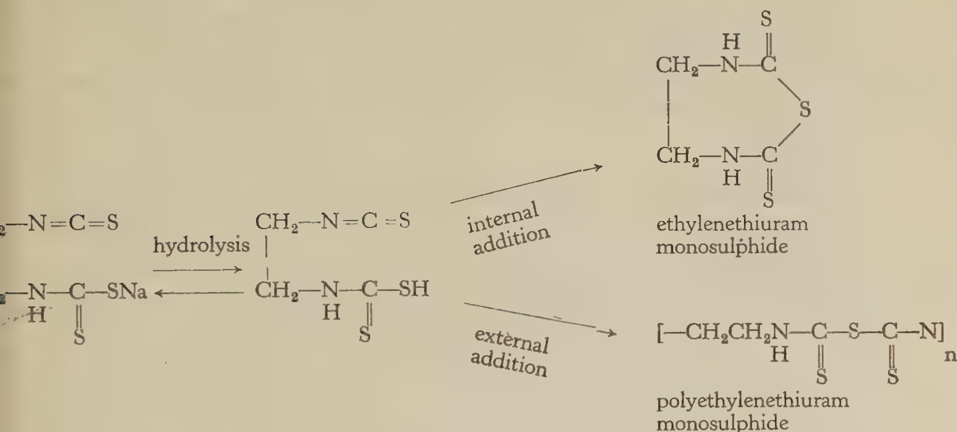


n cannot be defined exactly but, in any case, is rather high.

The formation of these compounds can be explained as follows. According to the decomposition reaction 3 mentioned earlier the following primary product can be expected from nabam by the loss of one S atom (as H_2S or $HS^{(-)}$) :



This primary product can react further in the following way :



Whereas L u d w i g and T h o r n obtained the mixture of ethylene- and of polyethylenethiuram monosulphide in a moderate yield it seems that in the U.S.A. a technical method of preparation has been developed. Under the code name „thioneb" a product is available which mainly consists of polyethylenethiuram monosulphide. According to present informations „thioneb" is claimed to be the first effective product against *Monilia* rot of peaches. Further it should be more active as a

seed dressing than spergon and phygon, also in cases where manzate fails. Finally, promising results, comparable to those with captan, are claimed against apple scab. However that may be, it is certainly most interesting that an insoluble nabam derivative has become available which does not contain heavy metals. In this connection it may be recalled that already in 1951 Klöpping (29) prepared insoluble polyethylenethiuram sulphides by the oxidation of nabam solutions with ammonium persulfate.

I realize that my discussion of the bisdithiocarbamates has been rather ample. It seemed, however, useful to treat at least one branch somewhat more thoroughly.

Antibiotics and systemic compounds

During the past ten years a definite change in character has occurred in the attempts directed towards the development of new remedies against plant diseases. In the first place *antibiotics* are drawing more and more attention. Secondly, much work has been done towards the development of disease control by introducing translocatable chemicals into plants : the *systemic compounds*, an idea which at the time especially has been promoted by Horsfall (19). The antibiotics, at least in principle, are only different from the synthetic compounds mentioned before in being produced by living organisms, mostly microorganisms. With the search for systemic compounds, however, an entirely new concept was introduced into the study of plant disease control.

There exists still some confusion of ideas regarding the definition of this concept. Some investigators wish to restrict it to the combat of typical internal diseases, such as Dutch elm disease and the several wilts, in which the pathogen is present within the vessels and thus cannot be attacked at all with the usual protective compounds. Other people are inclined to take the concept in a much wider sense and include all possible actions of any chemical compound which is taken up by and translocated within the plant. When accepting the latter point of view also the synthetic plant-growth regulators and certain metal chelates must be considered systemic compounds. In the field of infectious plant diseases it is now almost generally accepted to speak of *internal chemotherapeutants* which can be defined as : *compounds which after being taken up by the plant, whether or not after chemical transformation, are translocated and which protect the plant directly or indirectly against pathogenic organisms.*

This is a rather comprehensive definition which, accordingly, takes into account the wide fields being covered by internal

chemotherapy. Otherwise, it has in common with nearly all definitions that without damage to science it can be formulated in a different way.

As in the field of protectant fungicides we have a tendency here to look at the formidable successes which have been achieved in the apparently closely related but in fact quite different field of insecticides. The relation plant-parasitic plant *versus* plant-parasitic animal is accompanied with biochemical complications which especially come to light when searching for internal chemotherapeutants. Here it is already very difficult to define specific biochemical differences between host and parasite. It is even more difficult to make use of such differences for the development of specific internal chemotherapeutants. In the case which interests us to-day the biochemical processes in host and parasite are very closely interrelated. In its extremest form we find this in the virus diseases of plants, a field which is undoubtedly the most difficult of all in chemotherapeutic respect.

As appears from the foregoing, internal therapy of plant diseases is closely connected with the translocation of chemical compounds within the plant, whatever their mode of action as a chemotherapeutant may be. In the latter respect three cases can be distinguished. The chemotherapeutant or, alternatively, a product derived from it, can act :

a. by a direct toxic action on the parasite being present within or penetrating into the plant;

b. by the chemical inactivation of phytotoxic compounds (toxins) produced by the parasite;

c. by a biochemical interference with the host's metabolism, resulting in an increased resistance.

Examples of each of these cases have been described in literature, though it must be remarked that it is often extremely difficult to decide which of the cases applies.

One of the nicest illustrations of a direct action on the parasite is the chemotherapeutic action of the antibiotic griseofulvin, studied by Brian and Crowdy (3, 7, 8). After root application it could be demonstrated in unaltered form in guttation droplets and in the leaves. For the antibiotics streptomycin and chloramphenicol similar observations have been described. Not many examples are available as yet of compounds which act by inactivation of toxins. A well-known case, described by Howard (21), is the action of the hydrochloric acid salt of diaminoazobenzene against the toxins produced by *Phytophtora cactorum*. This action also takes place *in vitro*. Least convicting are the exam-

ples that are available of chemotherapeutic action by interference with host metabolism. This is partly due to the fact that all cases that can not, or not yet, be classified into the first two categories, are ranged more or less *per exclusionem* into this third group. It is, moreover, not surprising that in a subtile mechanism such as the relation plant-parasite, already a slight affection of host metabolism can, favourably or unfavourably, influence this relation. Do we—impressed by the vast number of plant diseases—not forget too often that in nature not resistance but susceptibility is the exception? One could even forward the hypothesis that any chemical compound, which is absorbed and translocated by the plant, and which is not inert with respect to host metabolism, has ample chance once to be mentioned in literature as a potential chemotherapeutant. For a purposeful development of this third possibility we need to extend our fundamental knowledge of biochemical factors which in the normal plant determine susceptibility or resistance. Interesting starting points are undoubtedly available already. I only want to mention an investigation of Pierson and Walker, who studied the effect of *Cladosporium cucumerinum* on the tissues of resistant and of susceptible cucumber plants. They found, that penetration occurs in the same way in both cases, but that there are differences in anatomical aspects (37). These, undoubtedly, are due to differences in metabolic processes in resistant and susceptible plants. Much attention is being given nowadays to the significance for the mode of attack of pectolytic enzymes, secreted by certain moulds (*cf.* 50). I have, however, the impression that I have approached—and perhaps have already crossed—the borders of fields about which I have less right of talking than anyone of my audience. Thus it seems better to return to the action of distinct chemical compounds, a field in which I feel more at home.

It will be clear from the foregoing that I will have to restrict myself even more when discussing the systemic compounds than was already necessary with the protectant fungicides.

With certain organic mercury and sulphur compounds it has been possible to combat fungi which were already present in seeds or plants. Though a certain internal therapeutic action cannot be denied, the distances over which these substances can be transported are only small. Systemic action in the generally accepted sense cannot be ascribed to these compounds. If we further leave out of consideration this category of chemotherapeutics and subsequently put the question which chemical compounds nowadays are used practically for the internal therapy of fungus diseases, the answer can be short : not a single one! However, if confining myself to this answer I would do wrong

to the many investigations which are carried out all over the world, frequently with encouraging results.

In the last part of this lecture I intend to stress some features of these investigations.

I would like to start with some interesting results which recently have been obtained with antibiotics. As has already been remarked earlier, many antibiotics are absorbed and translocated by plants. In a study of translocatability Crowdy and Pramer (9) came to the following conclusions. Neutral and acid antibiotics are readily translocated (chloramphenicol, griseofulvin, penicillin); less easily translocated, and frequently with varying results, are the basic (neomycin, streptomycin) and the amphoteric antibiotics (aureomycin, terramycin).

It is certainly remarkable that so many antibiotics, although belonging to widely divergent classes of chemical compounds, are translocated within plants. Is it too bold to suggest that antibiotics, being in most cases metabolic products of lower plants, in general do not have too great an affinity for plant tissues?

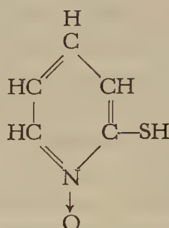
Most of the antibiotics known at present show mainly bactericidal activity. From a recent survey by Dekker (15) it appears that up till now in practice only certain bacterial diseases have been combatted with antibiotics (streptomycin and actidione). However, Dekker (14) recently found that the fungitoxic antibiotic *rimocidine* (like terramycin a product of the actinomycete *Streptomyces rimosus*) shows internal therapeutic action against fungi.

Using this compound as a seed dressing he succeeded in cultivating healthy plants from pea seed which was internally infected with the moulds *Ascochyta pisi* and *Mycosphaerella pinodes*.

The study and application of antibiotics in general has originated from attempts to find better remedies against infectious diseases in men. Only hesitatingly it has been accepted that these „miracle drugs" which must be extracted from culture filtrates by laborious methods can also serve humanity outside the medical field. With the application of antibiotics for the internal therapy of plant diseases we undoubtedly stand at the beginning of a long but promising development.

The chemical search for compounds with internal action starts with the work of Horsfall and his coworkers on the chemotherapeutic effect of 8-hydroxyquinoline and its benzoate against Dutch elm disease. Probably this effect is due to a direct toxic action of 8-hydroxyquinoline on the parasite. The peculiarity of this compound is that, contrary to practically all known synthetic

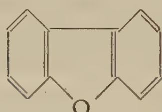
fungicides, it is translocated within the plant. Recently a new systemic compound, which probably acts in the same way as 8-hydroxyquinoline, has been described : 2-mercaptopyridine-N-oxyde (1, 2, 43).



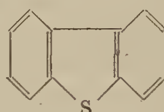
8-Hydroxyquinoline as well as 2-mercaptopyridine-N-oxide are strong chelating agents and it seems probable that both compounds are translocated within the plant as the corresponding metal complexes.

An interesting observation which is, however, difficult to classify has recently been reported by D a v i s (13). He found that simple compounds, consisting of a five-membered ring, condensed at both sides with a benzene ring, exercise a distinct systemic action.

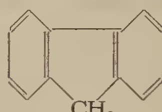
The following compounds were found to be active :



dibenzofurane

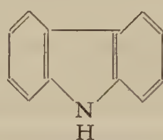


dibenzothiophene

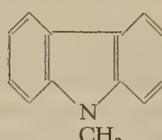


fluorene

Carbazole was inactive; it could be transformed into an active compound by introducing a methyl group at the nitrogen.



carbazole
inactive



N-methylcarbazole
active

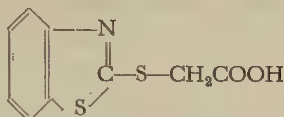
Structural specificity seems to be fairly high in this series because neither the parent five-membered rings nor the compounds containing only one benzene ring showed activity. Internal activity was not found either for heterocyclic six-membered rings, whether or not condensed with one or two benzene nuclei.

In the search for systemic compounds two leads were mainly followed.

1. Starting from the idea that an internal therapeutant must be absorbed into and translocated within the plant one has primarily

given attention to plant-growth regulating substances which highly satisfy this requirement. These substances, in fact, have been successful in a direct way since various synthetic growth factors and structurally related compounds could protect tomato plants against the attack of the vascular parasite *Fusarium oxysporum* (Stoddard and Dimond (44), Davis and Dimond (11)).

Surprisingly, these compounds were not fungitoxic *in vitro.* Thus David and Dimond (12) concluded that compounds of this type protect the plant in an indirect way, *viz.* by increasing the resistance of the plant against the parasite. The protective action of another substance with plant growth-regulating activity, 2-(carboxymethyl)-mercaptobenzothiazole, was explained in the same way.



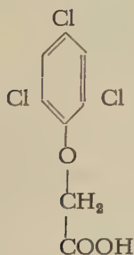
2-(carboxymethyl)-mercaptobenzothiazole

In all these cases the growth-regulating activity is an inconvenience. For this reason Davis and Dimond made the suggestion that the development of internal therapeutants could be based on growth-factor structures which latter, then, had to be deprived of their growth-regulating activity by appropriate structural variations.

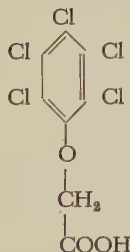
In the meantime, however, this idea had already been realized by Crowdy and Wain to a certain extent (6). These investigators must be credited for having been the first to develop internal therapeutants along rational lines.

By introducing certain substituents into phenoxyacetic acid, compounds were obtained which had no growth activity, but could still be absorbed and translocated by the plant.

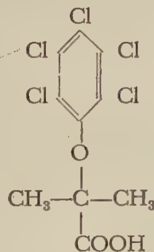
Broad bean and tomato plants were protected systemically against the attack by *Botrytis fabae* and *Alternaria solani* respectively, by treatment with 2,4,6-trichlorophenoxyacetic acid, penta-



2,4,6-trichloro-
phenoxyacetic acid



pentachloro-
phenoxyacetic acid



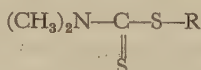
pentachloro-
phenoxy*iso*butyric acid

chlorophenoxyacetic acid and pentachlorophenoxy*iso*butyric acid. All three compounds are inactive as plant growth substances.

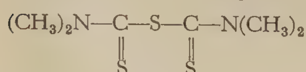
Originally it was assumed that the internal protective action of these compounds which are only weakly fungicidal *in vitro* is due to such an accumulation in the plant tissues that fungicidal concentrations are reached. Later Wain (6) suggested that these compounds are either converted in the plant into more active fungicides or, alternatively, that they produce biochemical changes which increase the resistance of the host.

2. As a second possibility it has been tried to modify chemically certain known, non-translocatable fungicides into translocatable compounds. In principle this can be reached by attaching temporarily a „carrier" to the fungicide, thus rendering the combination translocatable. In the plant, again, this carrier must be split off in order to liberate the fungicide. The ideal situation would be, then, that this liberation could only be achieved by specific mould enzymes. In this way the liberation of the fungicides, which are never completely harmless to the plant, would remain restricted to places where the mould is present.

It is this way that is mainly being followed in the investigations carried out at my Institute within the framework of the „Research Team for internal therapy of plant diseases T.N.O." (leader Prof. Dr. A. J. P. Oort) in co-operation with the Research Department of N. V. Philips-Roxane. We have tried, for instance, to modify the dithiocarbamate structure in such a way that translocatable substances are obtained. The starting point was the observation of Van Raalte (38) that tetramethylthiuram monosulphide, contrary to sodium dimethyldithiocarbamate and tetramethylthiuram disulphide, is translocated through a potato petiole. In virtue of this observation a range of compounds was prepared showing the general formula

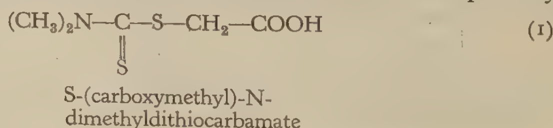


the group R being varied in a systematical way.



tetramethylthiuram monosulphide (R = —C(=S)—N(CH$_3$)$_2$)

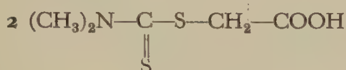
The most interesting results were obtained with derivatives having a carboxyalkyl group for R, as for instance the prototype



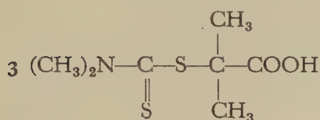
S-(carboxymethyl)-N-dimethyldithiocarbamate

Fig. 5. — Growth-regulating activity of several substituted dithiocarbamates on tomato plants after spraying the leaves with 500 p.p.m. solutions.

1 control



2 $(CH_3)_2N{-}C({=}S){-}S{-}CH_2{-}COOH$



3 $(CH_3)_2N{-}C({=}S){-}S{-}C(CH_3)_2{-}COOH$

Fig. 6. — Development of cucumber scab in seedlings after inoculation with *Cladosporium cucumerinum.*

Top row : treated with $(CH_3)_2N{-}C({=}S){-}SCH_2COOH$

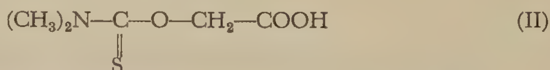
Bottom row : treated with $(CH_3)_2N{-}C({=}S){-}C(CH_3)_2{-}COOH$

In both series the concentrations are from left to right : 0, 100, 250, 500 and 1000 p.p.m. Phytotoxic symptoms are seen at the two highest concentrations. Complete protection without phytotoxic symptoms at 250 p.p.m.

For a more detailed description of the technique applied and of the results obtained the reader is referred to the communication which Van Raalte has made here one year ago (39).

Several of the compounds investigated exhibited a pronounced plant growth-regulating activity next to their chemotherapeutic effect. It turned out to be possible to separate both activities by certain structural changes. By introducing two methyl groups into the side chain of the compound mentioned above a substance was obtained which is inactive as a growth factor but shows the same chemotherapeutic activity as the parent compound. (fig. 5 and 6).

At first sight one observes here a striking similarity between our new substances and the chemotherapeutants developed by Wain. Thus, one might be inclined to assume that the carboxy-alkyldithiocarbamates also act by unspecifically increasing the resistance of the treated plants. Meanwhile, certain additional experimental facts are available which render this assumption improbable. By further structural variation the following compound was obtained :



$$(CH_3)_2N{-}\underset{\underset{S}{\|}}{C}{-}O{-}CH_2{-}COOH \qquad (II)$$

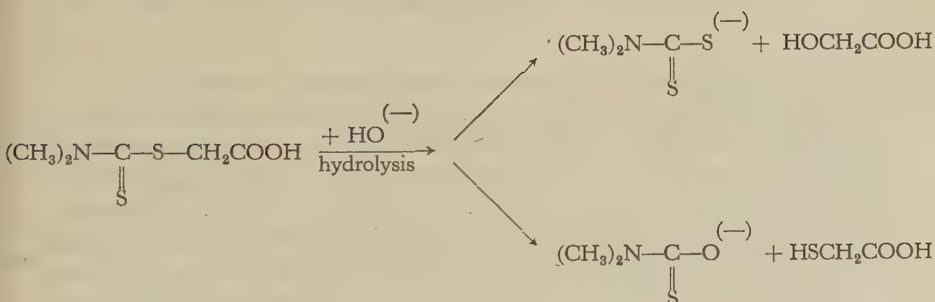
Fig. 7. — Growth-regulating activity of some related thiocarbamate structures on tomato plants, after spraying with 500 p.p.m. solutions.

1. control
2. $(CH_3)_2N{-}\underset{\underset{S}{\|}}{C}{-}S{-}CH_2COOH$
3. $(CH_3)_2N{-}\underset{\underset{O}{\|}}{C}{-}S{-}CH_2COOH$
4. $(CH_3)_2N{-}\underset{\underset{S}{\|}}{C}{-}O{-}CH_2COOH$

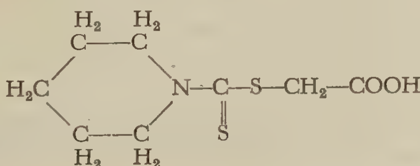
In this compound II the sulphur atom, which connects the $-CH_2COOH$ group with the nitrogen, is replaced by oxygen. This oxygen analogue is still more active as a growth factor than the parent compound I (fig. 7); as an internal therapeutant it is, however, completely inactive.

Apart from a quantitative difference the compounds I and II (in the figure 2 and 4 respectively) show also an important qualitative difference. Whereas the growth-regulating effect of compound I declines after a relatively short period, that of compound II shows great persistency. Tomato plants, the leaves of which had been sprayed with 500 p.p.m. solutions of I and II, displayed strong epinastic curvatures after about 5 hours. After 24 h. the plants treated with compound I appeared normal again. The epinastic phenomena of the plants treated with compound II did not show any visible decrease; neither was this the case after two days.

Taking into account the chemical properties of the two compounds this difference cannot be explained otherwise than by assuming that compound I is easily decomposed within the plant, whereas compound II is highly stable. Thus it seems highly probable that compound I is active as an internal therapeutant, because on decomposition it produces the fungitoxic thio- or dithiocarbamate ion. Compound II, which is not being decomposed, consequently is inactive as an internal therapeutant.



A few dithiocarbamates of a different type were also found to have chemotherapeutic activity. The compound S-(carboxymethyl)-*cyclo*pentamethylenedithiocarbamate :



appeared to be able to protect tomatoes against attack by *Alternaria solani* (Rombouts (42)).

Rombouts (42) also found internal protection of broad-beans, the stems of which had been placed in a solution of the disodium salt of S,S'-(dicarboxymethyl)ethylenebisdithiocarbamate, previous to inoculation with *Botrytis fabae* (*cf.* fig. 8).

Fig. 8. — Chemotherapeutic action of disodium S,S'-(dicarboxymethyl)ethylene bisdithiocarbamate against attack of broad-beans by *Botrytis fabae*.
Left : leaves of control plants.
Right : leaves of plants which had been placed in a 100 p.p.m. test solution.

In conclusion there remain some general remarks.

Many of you are directly concerned with the combat of plant diseases in the field. I do not want to discuss here the question whether or not it is to be recommended to apply agricultural chemicals in ever increasing amounts. As always, the desirable must be subordinated to the possible. Accepting the present situation we can state that the science of practical agriculture awaits with strained interest the new products emerging from the chemists' laboratories. But conversely, I can assure you that the chemists abide with equal or perhaps even greater suspense whether the products of their thoughts and work can find favour in the eyes of the agriculturists.

Manifold are the obstacles that an interesting laboratory preparation has to pass on its way to the field. There are : the intrinsic toxicity against the parasitic organism, especially in connection with the phytotoxicity towards the host plant; the stability of the product, whether or not formulated, towards atmospheric influences as humidity, oxygen and light; the toxicity

for humans and animals, not only during the application of the agent, but especially with regard to the possibility that toxic residues remain on or in the harvested products. And when all obstacles of this nature have been overcome, it may happen that economic considerations finally still impede the practical application. This may be connected with the non-productiveness of the available manufacturing process, but it can also simply be caused by the fact that the product was developed 5 to 10 years too late. I am almost certain that in the archives of many industrial laboratories all over the world elaborated projects are available, which only have not been realized, because they finally did not show advantages over the agents that have been used successfully for years, as for instance the dithiocarbamates.

In 1951 already, Wellman (*) concluded that in the average only one in two thousand compounds prepared gets as far as practical application. Now that everywhere in the world people are working intensively in the even more uncertain field of systemics this ratio is undoubtedly still more unfavourable.

I only point your attention to this to impress on you the amount of labour which the chemist—apparently in vain!—has to perform before he may hope for a *fiat* from your side. But even if your approval is not obtained the labour is not actually in vain. Also this labour helps to run up the building which once will serve as a new proof of the mutual connection of all natural sciences.

(*) R. H. Wellman : The economics of developing agricultural chemicals. Paper at the meeting of the American Phytopathological Society and the American Association of Economic Entomologists, Cincinatti 1951.

1. A. ALBERT, C. W. REES and A. J. H. THOMLINSON. — *Angew. Chemie* **67**, 404 (1955).
2. P. ALLISON and G. L. BARNES. — *Phytopathology* **46**, 6 (1956).
3. P. W. BRIAN and J. M. WRIGHT. — *Nature* **167**, 347 (1951).
4. W. BYRDE and D. WOODCOCK. — *Ann. Appl. Biol.* **40**, 675 (1953).
5. C. E. COX, H. D. SISLER and R. A. SPURR — *Science* **114**, 643 (1951).
6. S. H. CROWDY and R. L. WAIN — *Nature* **165**, 937 (1950); *Annals applied Biology* **38**, 318 (1951); see also R. L. WAIN — *Mededelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent* **18**, 394 (1953).
7. S. H. CROWDY *c.s.* — Congr. Int. Bot., Paris 1954.
8. S. H. CROWDY and D. PRAMER — *Annals of Botany* **19**, 79 (1955).
9. S. H. CROWDY and D. PRAMER — *Chemistry and Industry* **7**, 160 (1955).
10. H. S. CUNNINGHAM and E. G. SHARVELLE — *Phytopathology* **30**, 4 (1940). E. L. FELIX — *Phytopathology* **32**, 4 (1942).
11. D. DAVIS and A. E. DIMOND — *Phytopathology* **42**, 563 (1952).
12. D. DAVIS and A. E. DIMOND — *Phytopathology* **43**, 137 (1953).
13. D. DAVIS, CHIEN-PEN LO and A. E. DIMOND — *Phytopathology* **44**, 486, 680 (1954).
14. J. DEKKER — *Nature* **175**, 689 (1955).
15. J. DEKKER — *Med. Dir. van de Tuinbouw* **18**, 623 (1955).
16. A. E. DIMOND, J. W. HEUBERGER and J. G. HORSFALL — *Phytopathology* **33**, 1095 (1943).
17. J. GREMMEN — *Antonie van Leeuwenhoek* **22**, 58 (1956).
18. P. E. HOCHSTEIN, C. E. COX and H. D. SISLER — *Phytopathology* **44**, 492, 506 (1954).
19. J. G. HORSFALL — „Fungicides and their action" (Chronica Botanica Cy., Waltham, Mass., U.S.A. 1945).
20. W. P. TER HORST and E. L. FELIX — *Ind. Eng. Chem.* **35**, 1255 (1943).
21. F. L. HOWARD — *Science* **94**, 345 (1941).
22. A. KAARS SIJPESTEIJN and G. J. M. VAN DER KERK — *Biochemica et Biophysica Acta* **13**, 545 (1954).
23. A. KAARS SIJPESTEIJN and G. J. M. VAN DER KERK — *Biochimica et Biophysica Acta* **15**, 69 (1954); **19**, 280 (1956).
24. A. KAARS SIJPESTEIJN and G. J. M. VAN DER KERK — *Biochimica et Biophysica Acta* **19**, 280 (1956).
25. G. J. M. VAN DER KERK and H. L. KLÖPPING — *Rec.* **71**, 1179 (1952).
26. G. J. M. VAN DER KERK, H. C. VAN OS, G. DE VRIES and A. KAARS SIJPESTEIJN — *Mededelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent* **18**, 402 (1953).
27. A. R. KITTLESON, *Science* **115**, 84 (1952).
28. H. L. KLÖPPING — „Organische verbindingen met fungicide werking", uitgave van het Organisch Chemisch Instituut T.N.O. te Utrecht, 1948.
29. H. L. KLÖPPING — „Chemical constitution and antifungal action of sulphur compounds", Thesis, Utrecht, 1951.
30. H. L. KLÖPPING and G. J. M. VAN DER KERK — *Rec.* **70**, 949 (1951).

31. H. L. KLÖPPING, — U.S.P. 2.729.644, 2.729.645, 2.729.646 (E. I. du Pont de Nemours and Cy, 1956).

32. R. A. LUDWIG and G. D. THORN — *Plant Disease Reporter* **37**, 127 (1953).

33. R. A. LUDWIG, G. D. THORN and D. M. MILLER — *Can. J. Botany* **32**, 48 (1954).

34. R. A. LUDWIG, G. D. THORN and C. H. UNWIN — *Can. J. Botany* **33**, 42 (1955).

35. G. L. McNEW and N. K. SUNDHOLM — *Phytopathology* **39**, 721 (1949).

36. A. F. PARKER-RHODES — *Ann. Appl. Biol.* **30**, 170 (1943).

37. C. F. PIERSON and J. C. WALKER — *Phytopathology* **44**, 495 (1954).

38. M. H. VAN RAALTE — Proc. IIIrd Int. Congr. Crop Protection, Paris 76 (1952).

39. M. H. VAN RAALTE, A. KAARS SIJPESTEIJN, G. J. M. VAN DER KERK, A. J. P. OORT and C. W. PLUYGERS — *Med. van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent* **20**, 543 (1955).

40. W. E. RADER, C. M. MONROE and R. R. WHETSTONE — *Science* **115**, 124 (1952).

41. S. RICH and J. G. HORSFALL — *Science* **120**, 122 (1954).

42. J. E. ROMBOUTS — unpublished results.

43. E. SANDER and P. ALLISON — *Phytopathology* **46**, 25 (1956).

44. E. M. STODDARD and A. E. DIMOND — *Phytopathology* **41**, 337 (1951).

45. J. B. SUMNER and K. MYRBÄCK — „The Enzymes" (Academic Press Inc., New York 1950).

46. G. D. THORN and R. A. LUDWIG — *Can. J. Chem.* **32**, 872 (1954).

47. W. H. TISDALE and I. WILLIAMS — U.S.P. 1.972.961 (1934) (filed May 26 th, 1931).

48. J. H. UHLENBROEK — Comm. Congr. Pure and Appl. Chem. Zürich 1955; ref. *Angew. Chemie* **67**, 764 (1955).

49. R. WAEFFLER, R. GASSER, A. MARGOT and H. GYSIN — *Experientia* **11**, 265 (1955).

50. J. C. WALKER and M. A. STAHMANN — *Ann. Rev. of Plant Physiol.* **6**, 351 (1955).

51. R. H. WELLMAN and S.E.A. McCALLAN — *Contrib. Boyce Thompson Inst.* **14**, 151 (1946).

52. B. WEST and F. T. WOLF — *Phytopathology* **44**, 333 (1954).

53. O. F. WILLIAMS and J. R. GRAHAM — *Agricultural Chemicals* **10**, 51 (1955).

DE POSTULATEN VAN KOCH EN ENIGE ANDERE MOGELIJKHEDEN VAN BEWIJSVOERING IN DE NEMATOLOGIE

door

M. Oostenbrink

Plantenziektenkundige Dienst (P.D.), Wageningen

Inleiding

In de laatste jaren worden in verschillende landen gegevens verzameld over de betekenis van nematoden of aaltjes als oorzaak van slechte-groeiverschijnselen bij de plantenteelt. Hierbij blijken vele tot nu toe niet onderzochte soorten betrokken te zijn, terwijl niet zelden mengsels van twee of meer van deze soorten voorkomen. Het aantonen van de primaire betekenis van deze aaltjes is technisch moeilijk, hetgeen tot gevolg heeft dat nog slechts in enkele gevallen het oorzakelijk verband tussen aaltjes en daarmee samengaande plantenziekten overtuigend is aangetoond (2). Hierna worden enige mogelijkheden besproken voor het desbetreffende onderzoek.

De Inoculatieproef

Bij de entomologie kan men als regel het insect de schade aan de plant zien toebrengen en dit is tevens het bewijs dat het dier de oorzaak is. Bij de phytopathologie, die met micro-organismen werkt, maakt men gaarne gebruik van de regels of wel postulaten, die Koch in 1882 bij de dierziektenkunde heeft ingevoerd en waaraan voldaan moet worden voordat men een organisme pathogeen kan noemen (6). Deze regels eisen dus : a. dat het verdachte micro-organisme bij de ziekte steeds aanwezig is; b. dat het micro-organisme in reincultuur wordt gebracht; c. dat door inoculatie het karakteristieke ziektebeeld opgewekt wordt; d. dat uit de ziekgemaakte plant hetzelfde micro-organisme teruggeïsoleerd wordt. Wanneer aan deze regels is voldaan, en men zich verder bij het onderzoek van geen foute handelingen bewust is, mag men aannemen dat het bewuste micro-organisme de oorzaak van de ziekte is.

Bij obligaat-parasitaire organismen ondervindt men echter moeilijkheden met het kunstmatig kweken en dus met het zuiver maken. Dit geldt ook voor nematoden, die door hun kleine afmetingen en verdere eigenschappen als micro-organismen behandeld kunnen worden, hoewel zij anderzijds voldoende groot zijn om als individu geobserveerd te worden.

Voor experimenteel onderzoek met nematoden kan als regel geen zuivere populatie van voldoende grootte worden verkregen, daar zij op kunstmatige voedingsbodems meestal niet zijn te kweken en het individueel verzamelen bewerkelijk is. Bij het verzamelen in het groot krijgt men als regel bijmengsels van andere aaltjessoorten; dit geldt in het bijzonder voor de vrijlevende wortelaaltjes. Het is verder niet goed mogelijk om hen uit- en inwendig van andere micro-organismen te bevrijden zonder hen te schaden, ondanks het feit dat er voor speciale doeleinden enkele methoden en middelen zijn beschreven. Bepaalde soorten blijken bovendien het uit de grond spoelen, met water uitwassen en weer in de grond brengen, ook zonder verdere behandeling niet te overleven.

Tegenover het nadeel dat men veelal niet met zuivere, hoogstens met geselecteerde populaties kan werken, staat het voordeel dat men aaltjes kan vangen, herkennen en tellen, waarbij ook de samenstelling van mengsels kan worden bepaald. Bij het onderzoek van grond en plantendelen kan men bij benadering quantitatief werken, en hierop is een groot deel van het diagnostisch en ander experimenteel onderzoek met aaltjes gebaseerd.

Wanneer een onverklaard verschijnsel van slechte groei bij een gewas steeds samengaat met aaltjes van dezelfde stekeldragende soort in of rondom de wortels en de aantallen wijzen op een oorzakelijk verband, dan kan dit aanleiding zijn tot het uitvoeren van een inoculatieproef. De betreffende aaltjes kunnen uit zwaar besmette grond of uit aangetaste wortels worden verzameld, waarbij als regel een mengsel wordt verkregen met in hoofdzaak de betreffende soort. Met fijne zeven of door opspoelen met een constante waterstroom kan de uiteindelijke samenstelling van de suspensie nog worden beïnvloed. Door wassen met water, of door de aaltjes in water door een wattenfilter te laten kruipen, kan de suspensie worden gereinigd, waarna ze kan worden geïnoculeerd in gesteriliseerde of althans onbesmette grond. Door een evenredig deel van de suspensievloeistof met 50 u zeven van de aaltjes te bevrijden en deze vloeistof bij de contrôlepotten te voegen, worden eventueel nog bij de aaltjes aanwezige micro-organismen zo gelijk mogelijk verdeeld. Daarna kan per pot een plant, of om de variabiliteit op te vangen een gewaseenheid bestaande uit een aantal planten, worden geteeld en in zijn ontwikkeling worden vervolgd.

Het is vooral bij inoculatieproeven in potten van belang om te werken met stijgende doseringen aaltjes. Naast de onbesmette contrôles zijn inoculaties gewenst, die overeenkomen respectievelijk met de te velde per cm^3 grond aangetroffen aaltjesbesmettingsgraad, met het te velde aanwezige aaltjespotentiëel per plant of per gebruikte gewaseenheid, en met een hogere dosis, dit laatste in verband met het feit dat soms slechts een klein deel der aaltjes de inoculatie overleeft en dus tot aantasting in staat is.

Quantitatieve bepalingen zijn, behalve bij de opsporing van het probleem en de dosering van het inoculum, vooral van belang om na te gaan in hoeverre het inoculum de handelingen overleeft heeft, of de betreffende aaltjessoort de plant heeft aangetast en zich heeft vermeerderd en of eventueel andere aaltjessoorten uit het geïnoculeerde mengsel naar voren komen.

Op deze wijze is het mogelijk om ook met niet-zuivere aaltjespopulaties bevredigend diagnostisch onderzoek te verrichten, ondanks het feit dat dus niet geheel aan de postulaten kan worden voldaan. Voor enkele voorbeelden kan worden verwezen naar recente literatuur (1, 7, 8).

Indicatie door grondontsmetting met een specifiek nematicide

Behalve door inoculatie kan men, juist omdat de gang van zaken gecontroleerd kan worden, bij de nematologie nog op andere wijze duidelijke aanwijzingen verkrijgen. Hierbij is het gebruik van een specifiek grondontsmettingsmiddel met bekende eigenschappen als indicator van belang (9). Bij het eigen onderzoek is om practische reden veelal dichloorpropeen, of het handelsproduct DD, gebruikt; wellicht zijn enkele andere nematiciden in dit opzicht ook bruikbaar.

Grondbehandeling met DD geeft bij aaltjesaantasting meestal een opvallende groeiverbetering. Met betrekking tot de vraag, in hoeverre een door grondbehandeling met DD verkregen groeiverbetering inderdaad wijst op de aanwezigheid van schadelijke aaltjes, met uitsluiting van andere oorzaken, kunnen de in de loop der jaren in ongeveer 50 ontsmettingsproeven verzamelde ervaringen als volgt worden samengevat :

1. DD werkte bij injectie in de grond dodend ten aanzien van plantenaaltjes in het algemeen en gaf bij verschillende aaltjesaantastingen groeiverbeteringen evenredig met de aaltjesdoding, terwijl deze groeiverbetering in volgende jaren weer verdween evenredig met het herstel van de aaltjespopulatie. De normaal toegepaste dosis was 60 cc/m^2 in 16 injecties ter diepte van 15 cm in niet te natte grond van meer dan 10° C. Hierdoor worden als regel 90-99% van de plantenaaltjes gedood.

2. Er werd tot nu toe in deze proeven geen groeistimulering geconstateerd, die niet door de aanwezigheid van parasitaire aaltjes werd verklaard. De groeiverbetering was niet groter dan bereikt werd door de grond gedurende 2 uur tot 60° C te verwarmen. Er werd geen groeistimulerend effect verkregen in onbesmette of kunstmatig ontsmette gronden. (Wel is er bij onvoorzichtige toepassing gevaar voor groeiremming).

3. Er is met dit middel, ondanks uitgebreid gebruik in verschillende landen, geen goed resultaat tegen andere moeheidsziekten of gebreksziekten bekend geworden. Wel werkt het insecticide en vermoedelijk enigszins bactericide, maar dit betreft aantastingen van geheel andere aard.

Wanneer bij onverklaarde slechte-groeiverschijnselen door grondontsmetting met DD grote groeiverbetering wordt verkregen, dan moet dit dus als een sterke aanwijzing worden beschouwd dat aaltjes de primaire oorzaak van de slechte groei zijn.

Bij het diagnostisch onderzoek werd in gestandaardiseerde opzet hiervan herhaaldelijk gebruik gemaakt, namelijk door het aanleggen van indicatieveldjes en in de vorm van indicatieproeven in potten. De afbeeldingen 1 en 2 geven van elk een voorbeeld, die respectievelijk betrekking hebben op aantasting van gerst door, waarschijnlijk, *Pratylenchus thornei* Sher et Allen (Fig. 1) en aantasting van rozen door *Pratylenchus penetrans* (Cobb) Sher et Allen (Fig. 2).

Fig. 1. — Indicatieveldje : groeistagnatie in gerst, *Hordeum vulgare* L., bij sterke aantasting door wortelaaltjes, waarschijnlijk *P. thornei* Sher et Allen. Links voor en rechts achter na grondontsmetting met DD.

Indication plot : growth stagnation in barley, *Hordeum vulgare* L., correlating with heavy infestation by root celworms, probably *P. thornei* Sher et Allen. Front left and rear right, after soil disinfection with DD.

Fig. 2. — Indicatieproef in potten : groeistagnatie in roos, *Rosa canina* L., bij sterke aantasting door *Pratylenchus penetrans* (Cobb) Sher et Allen. Rechts natuurlijke grond van een besmet rozenperceel; midden na grondontsmetting met DD (3 cc DD per pot van 10 l); links na zachte verwarming van de grond (2 uur bij 60° C).

Indication trial in pots : growth stagnation in rose, *Rosa canina* L., correlating with heavy infestation by *Pratylenchus penetrans* (Cobb) Sher et Allen. Right, natural soil of an infested rose field; centre, after soil disinfection with DD (3 cc of DD per 10 l pot); left, after gently heating the soil (for 2 hours at 60° C).

Reproductie van de aantasting in besmette grond van andere herkomst

Een bezwaar van DD als indicator van aaltjesschade in originele zieke grond kan zijn het feit dat alle soorten plantenaaltjes tegelijk worden uitgeschakeld en dat niet blijkt in hoeverre de secundaire organismen mede verantwoordelijk kunnen zijn voor de schade. Daar cultuurgrond als regel een mengsel van aaltjes, ook van verschillende soorten plantenaaltjes bevat, kan dan nog niet altijd gezegd worden welk aaltje de hoofdrol speelt, temeer daar de soort met de dichtste populatie niet altijd de meeste schade veroorzaakt. Ook de mogelijkheid dat naast de aaltjes bepaalde micro-organismen aanwezig moeten zijn voor het ontstaan van het ziektebeeld kan niet worden uitgesloten.

Deze bezwaren zijn vrijwel ondervangen bij reproductie van de aantasting in natuurlijke, besmette grond van andere herkomst. Wanneer plaatselijke groeistagnatie bij een gewas samengaat met aantasting door een bepaalde aaltjessoort en dezelfde groeistagnatie ook optreedt op percelen waar een hoge populatie van dit aaltje werd opgebouwd op andere gewassen, terwijl grondontsmetting met DD de aantasting weer opheft, dan is dit een aanwijzing die het exacte bewijs nabij komt. Dit geldt in het bijzonder wanneer op enkele percelen onafhankelijk van elkaar dezelfde aanwijzing wordt verkregen. Het is uitgesloten te achten dat dan buiten de aaltjes nog een andere factor primair voor de groeistagnatie

verantwoordelijk of zelfs mede-verantwoordelijk kan zijn, tenzij deze onafscheidelijk aan de aaltjes verbonden is en dus een onderdeel vormt van het mechanisme waarmee de aaltjes de schade toebrengen. Ook van dit principe werd bij het diagnostisch onderzoek herhaaldelijk gebruik gemaakt, in ongeveer dezelfde standaarduitvoeringen als bij de indicatie met nematiciden.

Voorbeelden van reproductieproeven in potten, waarbij groeistagnatie bij granen, gras, peen, asperge en sla door *Pratylenchus-* en/of *Hoplolaimus*soorten in vreemde grond werd gereproduceerd en met DD en warmte weer werd opgeheven, zijn elders genoemd (7).

De hiernavolgende voorbeelden van reproductieproeven in het veld betreffen aantasting van rozen, aardbeien en frambozen door *Pratylenchus penetrans* (Cobb) Sher et Allen. De primaire betekenis van dit aaltje als veroorzaker van moeheidsverschijnselen werd vroeger door inoculatieproeven vastgesteld (8).

Rozenmoeheid tengevolge van aantasting door *P. penetrans* is reeds eerder gemeld (7, 8). Het curatieve effect van grondbehandeling met DD en warmte, volgens Fig. 2, wijst ook op aaltjes, dus *P. penetrans*, als de oorzaak. Dat dit aaltje inderdaad de primaire oorzaak van de slechte groei is, wordt wel zeer waarschijnlijk op grond van de in Fig. 3 getoonde reproductieproef, die het optreden demonstreert van dezelfde soort rozenmoeheid op grond waar granen en aardappelen een populatie van *P. penetrans* hebben opgebouwd, terwijl grondontsmetting met DD de ziekte ook daar weer opheft.

Fig. 3. — Reproductie van met *Pratylenchus penetrans* (Cobb) Sher et Allen gepaard gaande groeistagnatie in roos, *Rosa canina* L., in grond waar nooit eerder rozen waren geteeld, doch waarin de *P. penetrans* populatie was opgebouwd op granen en aardappelen. Links, na grondontsmetting met DD.

Reproduction of growth stagnation in rose, *Rosa canina* L., correlating with infestation by *Pratylenchus penetrans* (Cobb) Sher et Allen, in soil where roses were never grown before, but where the *P. penetrans* population was built up by growing cereals and potatoes. Left, after soil disinfection with DD.

Zwart wortelrot bij aardbeien blijkt ook het gevolg te kunnen zijn van aantasting door *P. penetrans* (3, 4, 5), evenals slechte

groei van frambozen (10). Hoewel wellicht nog geen volledig bewijs volgens de postulaten is geleverd, zijn wel aanwijzingen voor de primaire betekenis van de aaltjes verzameld. Deze worden op overtuigende wijze versterkt door het feit, dat de ziekteverschijnselen bij beide gewassen konden worden gereproduceerd op drie ver uiteengelegen percelen waar nooit aardbeien of frambozen waren geteeld doch waar geheel andere gewassen een *P. penetrans* populatie hadden opgebouwd, terwijl verder geen voor aardbeien en frambozen schadelijke organismen konden worden geconstateerd (Fig. 4). Het resultaat van deze proeven sluit tevens de medewerking van specifieke micro-organismen als factor bij het ontstaan van de ziekte uit.

Fig. 4. — Reproductie van het met *Pratylenchus penetrans* (Cobb) Sher et Allen gepaard gaande zwart wortelrot in aardbei, *Fragaria* sp., in grond waar nooit eerder aardbeien waren geteeld, doch waarin de *P. penetrans* populatie was opgebouwd op landbouwgewassen. Achter, na grondontsmetting met DD.

Reproduction of black root rot of strawberry, *Fragaria* sp., correlating with infestation by *Pratylenchus penetrans* (Cobb) Sher et Allen, in soil where strawberries were never grown before but where the *P. penetrans* population was built up by agricultural crops. Rear, after soil disinfection with DD.

Nabeschouwing en conclusie

Door de moeilijke hanteerbaarheid en zuivering van de aaltjes kan dus als regel niet, of niet precies, volgens de postulaten van Koch worden gewerkt bij het bepalen van hun betekenis als primaire ziekteverwekkers.

Dank zij de mogelijkheid van quantitatief populatieonderzoek en de toepassing van een specifiek nematicide, blijken echter ook op andere wijze aanwijzingen omtrent hun rol te kunnen

worden verkregen die objectief en overtuigend zijn, en daardoor het exacte bewijs nabij komen.

Het blijft gewenst om voor elke aaltjessoort tenminste één geval van aantasting door een zo exact mogelijke inoculatieproef te reconstrueren. Door daarnaast voor elke te onderzoeken soort een of enkele eenzijdig besmette proefvelden aan te houden, en van in aanmerking komende gewassen hier enkele rijtjes te toetsen op besmette en ontsmette stroken, kunnen stelselmatig en op rationele wijze gegevens worden verkregen over de betekenis van de aaltjes ten opzichte van deze gewassen, en tegelijk ook over de gevoeligheid van de planten (op grond van het groeiverschil tussen de besmette en ontsmette stroken) en hun aaltjesvermeerderend vermogen (op grond van wortel- en grondonderzoek). Dat het van practisch belang is om het aaltjesprobleem als geheel op deze wijze te kunnen benaderen, moge blijken uit het feit dat in onze streken tenminste enige tientallen aaltjessoorten nader onderzoek vergen betreffende hun parasitaire potenties en hun verhouding tot een groot aantal gewassen.

SUMMARY

Koch's postulates and other possibilities for the proof of pathogenicity in nematology

Koch's postulates, which are normally carried out in establishing the causation of a disease, cannot scrupulously be adhered to in the case of most nematode infestations in plants (1, 2).

This is due to the fact that pure populations of nematodes cannot normally be obtained, whereas certain species are weakened or killed in the process of collecting, cleaning and inoculation. These drawbacks, however, are counteracted by the possibility of numerical evaluation of the nematode population in soil and plant tissue, so that the process of inoculation and infestation can be checked.

Next to inoculation, evidence about the role of nematodes as causal agents can be obtained with the help of specific nematicides. Distinct improvement of plant growth to soil treatment with DD is experienced as a strong indication of nematode damage (except in the case of damage by soil-borne insects, which symptoms, however, are recognisable).

In diagnostic work DD was often used in standardized indication designs, as are demonstrated in fig. 1 (damage in barley by *Pratylenchus thornei*) and in Fig. 2 (damage in rose by *P. penetrans*).

A drawback of DD as an indicator in original sick soil could be the fact that it removes the mixture of plant parasitic nematodes as a whole and that it does not permit conclusions to what extent secondary organisms contribute to the disease symptoms.

More critical evidence about the role of a special eelworm species is therefore gained by reproducing the disease symptoms in soils, where the crop under consideration was never grown before, but where the eelworm species was built up by growing other crops. The author regularly makes use of this principle, again in standardized designs. C.f. (7), and also Fig. 3 (rose sickness by *P. penetrans*) and Fig. 4 (black root rot of strawberry by *P. penetrans*). The results of these reproduction trials indicate *P. penetrans* as the primary cause and exclude the role of other specific organisms.

It thus proves to be possible to complement Koch's postulates in the case of nematode infestations by other techniques, which may give convincing evidence in the case that fulfillment of the postulates is impossible or impractical.

1. CHRISTIE, J. R., BROOKS, A. N. & PERRY, V. G. — The sting nematode, Belonolaimus gracilis, a parasite of major importance on strawberries, celery, ans sweet corn in Florida. *Phytopathology* 1952, **42**, 173-176.
2. DROPKIN, V. K. — The relations between nematodes and plants. *Experimental Parasitology* 1955, **4**, 282-322.
3. GOHEEN, A. C. & SMITH, J. B. — Effects of inoculation of strawberry roots with meadow nematodes, Pratylenchus penetrans. *Plant Disease Reporter* 1956, **40**, 146-149.
4. KLINKENBERG, C. H. — Zwart wortelrot van aardbeien. *Tijdschrift over Plantenziekten* 1953, **59**, 261-262.
5. KLINKENBERG, C. H. — Nemathode diseases of strawberries in the Netherlands. *Plant Disease Reporter* 1955, **39**, 603-606.
6. KOCH, R. — Ueber die Milzbrandimpfung. Herdrukt in : Gesammelte Werke von Robert Koch, Leipzig 1912, **1**, 207-231.
7. OOSTENBRINK, M. — Over de betekenis van vrijlevende wortelaaltjes in land- en tuinbouw. *Verslagen en Mededelingen van de Plantenziektenkundige Dienst te Wageningen* 1954, **124**, 196-233.
8. OOSTENBRINK, M. — Bodenmüdigkeit und Nematoden. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten* (Pflanzenpathologie) *und Pflanzenschutz* 1955, **62**, 337-346.
9. RASKI, D. J. — Methods of detecting and investigating plant parasitic nematodes. *Phytopathology* 1953, **43**, 259-263.
10. SEINHORST, J. W., KLINKENBERG, C. H. & VAN DER MEER, F. A. — Aantasting in frambozen door Pratylenchus penetrans (Cobb) Sher & Allen. *Tijdschrift over Plantenziekten* 1956, 62, 5-6.

ÜBER DAS ZUSAMMENWIRKEN VON RÜBENNEMATODEN (*HETERODERA SCHACHTII*) UND VERGILBUNGSKRANKHEIT (*BETA VIRUS* 4)

von

H. Goffart

Münster/Westf.
Biologische Bundesanstalt

In Westdeutschland treten zwei gefährliche Krankheitserreger im Rübenbau auf, der Rübennematode (*Heterodera schachtii*) und die viröse Vergilbungskrankheit („Yellow disease"). Der Rübennematode ist seit vielen Jahren im westdeutschen Rübenbau bekannt, aber er hatte mit wenigen Ausnahmen lange Zeit hindurch keine wirtschaftliche Bedeutung. Erst durch die Intensivierung des Zuckerrübenbaues, z.T. unter gleichzeitiger Vermehrung des Kohlanbaues, kam es des öfteren zu erheblichen Ertragseinbussen, die im Rübenbau nicht selten an der Rentabilitätsgrenze lagen.

Eine neue Gefahr stellte sich für das westdeutsche Rübenanbaugebiet durch den Einbruch der virösen Vergilbungskrankheit ein. Diese wird durch die beiden Blattlausarten Myzodes persicae und Doralis fabae übertragen. Seit 1948 lassen sich zwei Herde epidemischen Auftretens am Niederrhein und in der Münsterischen Bucht erkennen. In diesen Gebieten erreicht der Krankheitsbefall bis zum September alljährlich mehr oder weniger vollständig 100% bei einem erheblichen Anteil von Frühinfektionen. Ausserdem weist der Futterrübenanbau in beiden Gebieten eine grössere flächenmässige Aufteilung als der Zuckerrübenanbau auf. Gerade die Futterrübe bildet aber durch die Lagerung in Mieten eine der wichtigsten Überwinterungsmöglichkeiten des Virus, die noch durch andere den Winter überdauernde Virusquellen (Spinat, Mangold und Kreuzblütler) verstärkt wird. Da sich die Vergilbungskrankheit namentlich in schwachwüchsigen und lückigen Beständen auswirkt und der Nematodenbefall ebenfalls ein vermindertes Wachstum hervorruft, ergab sich die Frage, wie sich das Zusammentreffen beider Krankheitserreger auf die Rübe auswirkt.

Zur Klärung des Problems führten wir einen exakten Infektionsversuch im Gewächshaus und einen Freilandversuch durch. Für den Gewächshausversuch, den wir in Mitscherlichgefässen anstellten, benutzten wir teils sterilisierten, teils mit Rübennematoden verseuchten Boden. Beide Versuchsreihen wurden am 19.3.56 mit Zuckerrüben besät, die am 24.3. aufliefen. Zwei Wochen später stellten sich in den mit Rübennematodenerde gefüllten Gefässen Wachstumshemmungen ein. Am 19.4. wurden die in gesunder und in verseuchter Erde stehenden Pflanzen je zur Hälfte durch 10 Myzodes persicae je Pflanze mit reinem Vergilbungsvirus infiziert. Nach 24 Stunden wurden die Blattläuse durch Abspritzen der Pflanzen mit 0,1% E 605-Lösung abgetötet. Einen Tag darauf zeigten die infizierten Pflanzen schon ein Schlappen der Blätter, zwei Tage später trat ein tütenförmiges Einrollen der Blattspreiten ein. Gleichzeitig war eine deutliche Wachstumsstockung der infizierten Pflanzen erkennbar. Die ersten Symptome der Vergilbungskrankeit wurden 8 Tage nach der Infektion sichtbar. Abb. 1 zeigt den Pflanzenstand unmittelbar

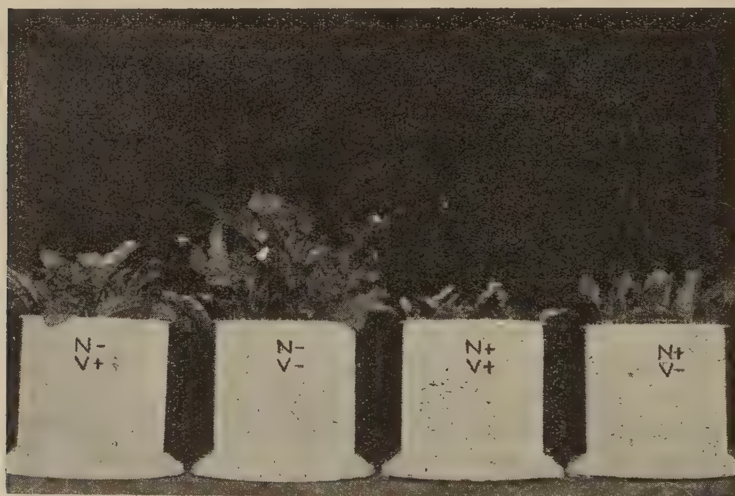


Abb. 1

vor dem Abbruch des Versuchs, der am 30.4. erfolgte. Die Aufbereitung des Materials hatte folgendes Ergebnis (Tab. 1) : Durch die Nematodeninfektion hat sich das Blatt- und Wurzelgewicht und damit auch das Gesamtgewicht der Pflanzen bedeutend vermindert. In % zum Gesamtgewicht lag das Wurzelgewicht jedoch etwas höher, eine Folge des später noch näher zu erläuternden Nematodeneinflusses auf die Blattentwicklung. Verändert wurde durch die Nematodeninfektion weiterhin die morphologische Beschaffenheit des Blatts. Das kommt deutlich in der

Verschiebung des Gewichtsverhältnisses von Blattspreite zu Blattstiel zum Ausdruck. Normalerweise müsste des Verhältnis über 1 liegen. Hier ist jedoch einmal das jugendliche Stadium aller Pflanzen zu berücksichtigen, wobei die Pflanzen der verseuchten Reihe physiologisch noch jünger sind als diejenigen der gesunden Reihe. Zum anderen drückt die Virusinfektion auf das Stielgewicht. Bemerkenswert ist vor allem der hohe Zuckergehalt bei den verseuchten Rüben, ein Zeichen dafür, dass dieser infolge der Wachstumshemmung nicht zum Aufbau der Pflanzen verwendet werden konnte. Demgegenüber zeigen die wüchsigeren nematodenfreien gesunden und vergilbungskranken Pflanzen einen sehr niedrigen Zuckergehalt.

Die Infektion mit dem Vergilbungsvirus hat sich bei verseuchten und unverseuchten Pflanzen sehr unterschiedlich ausgewirkt, obschon in beiden Fällen sämtliche infizierten Pflanzen Virussymptome und ein sichtbar schwächeres Wachstum aufzuweisen hatten. Sie prägt sich besonders im Wurzelgewicht aus. Weiterhin wirkt sie sich zugunsten der Blattspreite aus. Im Zuckergehalt kommt der Viruseinfluss jedoch nur im Trockengewicht zum Ausdruck und hier namentlich bei gleichzeitigem Nematodenbefall. In welchem Umfange die Schädigung im späteren Wachstumsverlauf kompensiert werden kann, hängt in erster Linie von dem Blattregenerationsvermögen der Rübenpflanzen ab.

TABELLE 1

Einfluss des Nematoden- u. Vergilbungsbefalls auf das Wachstum der Rüben

	Unverseucht		Verseucht	
	n	y	n	y
Blattgew. in g/Pfl.	8,28	7,69	2,34	1,68
Wurzelgew. in g/Pfl.	0,81	0,58	0,26	0,18
Gesamtgew. der Pfl. in g	9,09	8,27	2,59	1,87
Wurzelgew. in % d. Gesamtgew.	8,90	7,54	9,90	9,86
Rel. Stiel: Spreite	0,423	0,361	0,329	0,280
Zuckergehalt d. Wurzel in % F..	4,10	4,42	10,42	9,87
Zuckergehalt d. Wurzel in % T..	21,06	20,32	38,22	24,78

Erklärung : n = normal, y = vergilbungskrank, F = Frischgewicht,
T = Trockengewicht

Wenn wir die wichtigsten absoluten Zahlen in Relativwerten betrachten, erhalten wir folgende Übersicht (Tab. 2) : Sie zeigt im Gesamtgewicht der Pflanzen den überragenden Einfluss der Nematoden auf das Pflanzenwachstum, demgegenüber der Ver-

lust durch Vergilbung wenigstens bei den Pflanzen der unverseuchten Reihe fast unbedeutend erscheint. Hinsichtlich der Zuckerbildung hatten die von Nematoden befallenen Rüben absolut zwar einen erheblich höheren Zuckergehalt (vgl. Tab. 1); dieses Mehr wird aber durch das ausserordentlich niedrige Wurzelgewicht nicht nur restlos aufgehoben, sondern wandelt sich sogar in einen Verlust von 19,8% um, der sich bei gleichzeitiger Vergilbung auf 29,1% steigert. Unter Zugrundelegung des Vergilbungseinflusses ergibt sich ein Zuckerverlust von 23% bei unverseucht und von 32% bei gleichzeitigem Nematodenbefall.

TABELLE 2

Wachstumsschäden durch Nematoden- u Vergilbungsbefall

	Unverseucht		Verseucht	
	n	y	n	y
Gewicht der ganzen Pflanze				
Wachstumsverl. durch Nematoden	100	100	–71,5	–77,4
Vergilbung	100	–9	100	–28,2
Zuckerbildung in der Wurzel				
Verlust durch Nematoden	100	100	–19,8	–29,1
Vergilbung	100	–23	100	–32,0

Erklärung s. Tabelle 1

Den Freilandversuch führten wir 1955 auf einem nematodenverseuchten Feld durch, auf dem im Laufe des Sommers mit dem Auftreten einer starken Vergilbung gerechnet werden musste. Zur vergleichenden Beobachtung standen andere in der Nähe liegende Felder zur Verfügung, die z.T. keinen Nematodenbefall hatten. Zucker- und Futterrüben wurden teils gesät, teils gepflanzt. Die Hälfte der Versuchsflächen erhielt dann zur Ausschaltung des Viruseinflusses vom Beginn des Abflugs der virusübertragenden Blattläuse auf die Rüben bis zum Zusammenbruch des Blattlausfluges fünfmal je 400 g/ha des innertherapeutisch wirkenden Mittels Systox. Durch eine solche Behandlung ist nach den Untersuchungen von Steudel und Heiling die Infektion mit dem Vergilbungsvirus zwar nicht zu verhindern, wohl aber lassen sich die Auswirkungen der Vergilbungskrankheit auf Masse und auf Zucker unterbinden, sodass wir diese Flächen als praktisch frei von vermeidbaren Vergilbungsschäden ansehen können. Bis Mitte Juni zeigten die gesäten Rüben auf den Teilstücken keine äusseren Anzeichen eines Nematodenbe-

falls. Dann aber traten die ersten Symptome in Form von Wachstumsverzögerungen und Welkeerscheinungen auf. Zum Herbst war auf allen Flächen, auch auf den gespritzten, infolge des Viruseinflusses eine starke Gelbfärbung festzustellen. Am Ende der Vegetationsperiode wurden die Rüben geerntet und ihr Ertrag sowie ihr Zucker- und Stickstoffgehalt ermittelt. Aus Tabelle 3 ergibt sich, dass die gepflanzten Zucker- und Futterrüben einen erheblichen Minderertrag gegenüber den gesäten Rüben gebracht haben. Dieser ist in der Hauptsache wohl auf eine stärkere Schädigung durch den Nematodenbefall zurückzuführen, der durch eine unzureichende Wasserversorgung nach dem Auspflanzen noch erhöht wurde, denn die Pflanzen gelangten am 23.6. zwar in einen genügend feuchten Boden — am 20.6. waren 23 mm Regen gefallen —, dann aber folgte eine sich über den ganzen Monat Juli erstreckende Trockenperiode, in der nur 33% der normalen Niederschlagsmenge fielen.

TABELLE 3

Ertragswerte der Parzellen-Ernten 1955

	FR		FR		ZR		ZR	
	behandelt	yellow	behandelt	yellow	behandelt	yellow	behandelt	yellow
	früh gesät		gepflanzt		früh gesät		gepflanzt	
Rübe/dzha	514	366	380	346	351	278	242	216
Zucker in %	4,4	4,9	4,4	4,3	15,5	13,9	12,6	10,5
Zucker/dzha	22,7	18,0	16,6	14,9	54,6	38,6	30,4	22,6

Erklärung : FR = Futterrübe
ZR = Zuckerrübe

Weiterhin lässt sich aus der Tabelle entnehmen, dass die Systox-Spritzung bei den gepflanzten Rüben ein ganz anderes Ergebnis gebracht hatte als bei den gesäten. Wenn auch bei den gepflanzten Rüben weder der Ertrag an Masse noch der an Zucker wesentlich beeinflusst wurde, so ist daraus nicht zu schliessen, dass sie nicht oder nur sehr schwach von der Vergilbung befallen worden sind. Die Ursache für das Versagen der Systox-Spritzung liegt vielmehr im Auspflanzungstermin, der in den Beginn des Sommerflugs von Myzodes persicae fiel. Zum gleichen Zeitpunkt hatten die gesäten Rüben bereits geschlossene Bestände gebildet und je Pflanze 8 Myzodes persicae aufzuweisen. Das Besiedlungs-

maximum wurde erst am 13.7. mit 36,4 Myzodes persicae je Pflanze erreicht. Demnach ist ein starker Anflug auch zu den gepflanzten Rüben anzunehmen, der zu einer Totalbesiedlung und vollständigen Infektion führte. Diese konnte durch Systox

TABELLE 4

Einfluss von Rübennematoden und viröser Vergilbung auf Zuckerrüben

	Blatt			Rüben		Zucker			
	dz/ha	rel.	in % des Ges. Ertr.	dz/ha	relativ	Gehalt		Ertrag/ha	
						%	Diff.	dz	rel
Kontrolle	382	100	47,0	431	100,0	17,12		73,8	100
Vergilbung	368	94,6	47,4	410	95,0	16,55	–0,57	67,8	93
Nematoden	132	34,6	22,3	351	81,4	15,50	–1,62	54,4	73
Vergilbung + Nematoden	97	25,4	25,6	282	65,5	13,89	–3,23	39,2	53

Vergilbungsschaden ohne Nematoden 5,0% Ausfall an Rüben
0,6% Zuckergehaltsminderung
6,8% Zuckerertragsminderung

Vergilbungsschaden mit Nematoden 19,6% Ausfall an Rüben
1,6% Zuckergehaltsminderung
28,0% Zuckerertragsminderung

TABELLE 5

Einfluss von Rübennematoden und viröser Vergilbung auf Futterrüben

	Blatt			Rüben		Trockensubstanz			
	dz/ha	rel.	in % des Ges. Ertr.	dz/ha	relativ	Gehalt		Ertrag/ha	
						%	Diff.	dz	rel
Kontrolle	199	100,0	20,52	771	100,0	10,61		81,8	100
Vergilbung	200	100,5	22,20	702	91,0	11,25	+0,64	79,0	96
Nematoden	74	37,3	12,55	514	66,6	10,55	–0,06	54,2	66
Nematoden + Vergilbung	70	35,2	16,02	373	48,4	9,98	–0,63	37,2	45

Vergilbungsschaden ohne Nematoden 9,0% Ausfall an Rüben
0,6% Gehaltssteigerung an Trockensubst.
3,5% Ertragsminderung an Trockensubst.

Vergilbungsschaden mit Nematoden 27,5% Ausfall an Rüben
0,6% Gehaltsminderung an Trockensubst.
31,4% Ertragsminderung an Trockensubst.

nicht verhindert werden. Dass aber trotz der starken Besiedlung die Systox-Behandlung noch eine Abschwächung der Virusinfektion herbeigeführt hat, ergibt sich aus den Unterschieden im Zuckergehalt behandelter und unbehandelter gepflanzter Zuckerrüben. Auf die Nematoden selbst hat Systox in der verabreichten Menge und bei dieser Anwendungsform keinen Einfluss. In Tabelle 4 ist nun das Mittel aus 42 stark vergilbten, mit Systox behandelten und unbehandelten, aber nematodenfreien Parzellen berechnet und in Vergleich zu den Erträgen stark mit Rübennematoden verseuchter Flächen gestellt worden. Man erkennt hier das Abfallen der Erträge von nematodenfreien und vergilbungsfreien Parzellen bis zu solchen, die sowohl Nematoden wie auch Vergilbung aufzuweisen hatten. Gleichsinnig fallen auch der Zuckergehalt und die Zuckererträge. Wenn wir dann den Einfluss der Vergilbung und den von Vergilbung und Nematoden auf den Ertrag an Masse und an Zucker sowie an Zuckergehalt vergleichen, dann erkennen wir die erheblichen Schäden, die sich aus dem Zusammentreffen von Nematoden und Vergilbung ergeben. Sie machen z.B. bei Zuckerrüben einen Ertragsausfall von 19,6% und eine Zuckerertragsminderung von 28% aus. Bei Futterrüben (Tab. 5) sind die Ausfälle noch krasser, nämlich 27,5% an Masse.

Sehr niedrig liegt bei den von Rübennematoden befallenen gepflanzten und gesäten Rüben der Anteil an löslichem Stickstoff. (Tab. 6). Als Ursache darf man wohl eine verminderte Stickstoffaufnahme infolge der Schädigung durch den Nematodenbefall annehmen. Der höhere Anteil an löslichem Stickstoff bei

TABELLE 6

Stickstoffgehalt der Zucker- und Futterrüben 1955

	Lösl. Stickstoff in mg/g Frischgewicht		Lösl. Asche in %	
	n	y	n	y
Zuckerrübe, unverseucht gesät....	0,701	0,801	0,534	0,562
Zuckerrübe, verseucht gesät......	0,339	0,448	0,418	0,343
Futterrübe, unverseucht gesät.....	0,830	0,922	1,207	1,170
Futterrübe, verseucht gesät.......	0,397	0,481	0,850	1,037

Erklärung s. Tabelle 1

den yellow-kranken Rüben beruht nach einer Erfahrung des Instituts auf einer Speicherung proteolytischen Stickstoffs, der

aus den vergilbungskranken Blättern in den Rübenkörper abgeleitet worden ist. Die durch den Virusbefall verursachte Zunahme des löslichen Stickstoffs in der Rübe vermochte jedoch den Unterschied zwischen nematodenbefallenen und nematodenfreien Rüben nicht zu kompensieren.

Die Hemmung der Nährstoffaufnahme, die durch den Nematodenbefall verursacht wurde und sich aus dem anomal niedrigen Anteil an löslichem Stickstoff ableitet, wird auch durch gleichsinnige Unterschiede im Gehalt der Rübe an löslicher Asche in % belegt.

Wir haben in diesen beiden Versuchen das Verhalten der Rüben gegenüber Nematoden und Vergilbung in der Jugend und im erwachsenen Stadium untersucht. Die erhaltenen Ertragsausfälle stellen naturgemäss keine allgemein gültigen Schadensnormen dar, sondern zeigen nur die grundsätzliche Reaktion der Pflanze auf den kombinierten Befall. Sie lassen sich folgendermassen zusammenfassen :

1. Der Nematodenbefall beeinträchtigt die Blattentwicklung stärker als das Wurzel- bzw. Rübenwachstum. Der Blattausfall betrug im Gewächshausversuch 71,7%, im Feldversuch 65,4%, die Mindererernte an Wurzelmasse 68,4% bzw. 18,6%.

2. In beiden Versuchen konnte ein verminderter Aschengehalt der von Nematoden befallenen Pflanzen festgestellt werden. Dieser Befund deutet auf einen gestörten Mineralstoffwechsel bzw. auf eine gestörte Wasseraufnahme hin.

3. Bei einem kombinierten Befall durch Nematoden und Vergilbung stellt die Schädigung durch den Nematoden den primären Schadensvorgang dar.

4. Die Nematodenverseuchung steigerte den Vergilbungsschaden in allen drei Komponenten (Blatt, Rübe, Zucker). Der Nematode hat besonders den normalerweise sehr geringen Ausfall an Blattmasse erheblich gesteigert.

5. Die Einwirkung beider Erreger auf Wachstum und physiologische Vorgänge der Rübe sind teils gleichgerichtet, teils gegensätzlich. Der Nematodenbefall verändert das Blattwachstum in gleicher Weise wie die Vergilbung, er erniedrigt den Gehalt an löslicher Asche, während die Vergilbung ihn erhöht. Die Vergilbung beeinflusst den Kohlehydratstoffwechsel des Blattes erheblich, der Nematodenbefall wirkt jedoch nicht unmittelbar auf diesen Vorgang ein. Daher werden bei kombiniertem Befall die Wirkungen des Einzelbefalls teils gesteigert, teils abgeschwächt.

6. In beiden Versuchen ist die grössere Vergilbungsempfindlichkeit der von Nematoden befallenen Rübenpflanzen auf eine starke Initialschädigung (Steudel und Heiling) als

Folge der Entwicklungsverzögerung durch den Nematodenbefall anzunehmen. Unterschiedlich dagegen ist in beiden Versuchen die Wirkung des Nematodenbefalls auf den Zuckergehalt der Rüben, der bei den Gewächshauspflanzen eine Folge der fast vollständigen Wachstumsstockung ist, während er bei den Freilandpflanzen zum Aufbau der Pflanzen verwendet wurde.

Für den praktischen Rübenbau ergeben sich hieraus nachstehende Folgerungen :

1. Eine Nematodenverseuchung, die unter normalen Wachstumsbedingungen den Rübenertrag nicht merklich beeinträchtigt, kann bei Eintritt einer Vergilbungsinfektion erhebliche Ertragsausfälle hervorrufen.

2. Unter Bedingungen schwerer Virusinfektion besteht auf nematodenverseuchten Flächen die Gefahr einer völligen Missernte.

3. Auch in mittleren und leichteren Vergilbungslagen muss bei gleichzeitigem stärkeren Nematodenbefall mit schweren Schäden gerechnet werden. In solchen Gebieten ist dann auch die Voraussetzung für eine prophylaktische Bekämpfung virusübertragender Blattläuse gegeben.

ZUSAMMENFASSUNG

In einem Infektions- und einem Freilandversuch wurden die Beziehungen zwischen Rübennematoden und Vergilbung untersucht. Nematodenbefall wirkt sich auf das Gesamtgewicht der Rübe aus, vor allem wird die Blattentwicklung stark beeinträchtigt. Infolgedessen kommt es bei jungen Pflanzen zu einer starken Zuckerspeicherung. Bei erwachsenen Pflanzen liegt der Zuckergehalt nur wenig unter normal, dagegen wird der Zuckerertrag durch die Rübenmasse bestimmt. Von Nematoden befallene Rüben haben auch einen geringeren Anteil an löslichem Stickstoff und an löslicher Asche aufzuweisen. Beides deutet auf einen gestörten Mineralstoffwechsel bzw. eine gestörte Wasseraufnahme hin. Die Vergilbung hingegen greift mehr den Kohlehydratstoffwechsel an, während der Wachstumsverlust bei jungen und älteren Pflanzen geringer ist. Bei einem kombiniertem Befall durch Nematoden und Vergilbung ist die Schädigung durch Nematoden das Primäre. In diesem Falle sind die Verluste an Blatt, Rübe und Zuckergehalt und damit auch an Zuckerertrag bedeutend erhöht.

Meinem Mitarbeiter, Herrn Dr. H e i l i n g, danke ich für freundliche Beratung und Hilfe, namentlich für die Durchführung der chemischen Untersuchungen.

SUMMARY

The relations between sugar beet nematodes and yellow disease were studied in experiments. The infestation of sugar beet nematode depress the whole weight of the beet, especially the development of the leaves. Therefore young plants store up much sugar. The contents of sugar is only a little lower in old plants than normal, but the yield of sugar is determined by the weight of beets. Beets infested by sugar beet nematodes have a lower content of soluble nitrogen and soluble ashes. Both are to be traced to a disturbed exchange of minerals or a disturbed reception of water. The yellow disease attacks more the exchange of carbohydrates, while the loss of growing is less in young and older plants. In a combined infestation by nematodes and yellow disease the loss caused by nematodes is primary. In this case the losses of leaves, beets and sugar contents and therefore the yield of sugar is much higher.

LITERATUR

STEUDEL, W. und HEILING, A. — Die Vergilbungskrankheit der Rübe. *Mitt. Biolog. Bundesanstalt*, H. 79, 132 S.

H. den Ouden, Wageningen

V : Ist es nicht so, dass das Wetter einen sehr grossen Einfluss hat auf das Verhältnis der Virus- und Nematoden-Schäden?

A : Ohne Zweifel werden die absoluten Werte in jedem Jahr anders liegen; grundsätzlich dürfte sich aber im Verhältnis von Nematoden- und Viruseinfluss nichts ändern.

J. D. Bijloo, Wageningen

V : Ist etwas bekannt über Nematoden als Überträger von Viruskrankheiten?

A : Es besteht zwar die Vermutung, dass Nematoden bestimmte Viruskrankheiten übertragen können, experimentelle Ergebnisse liegen aber meines Wissens noch nicht vor.

Homeyer, Köln

V : Wie stark war der Boden verseucht?

A : Bei Topfversuchen 50 Cysten pro 100 g Erde. In Freilandversuchen war die Verseuchung geringer.

BESTRIJDING VAN HET AARDAPPELCYSTENAALTJE (*HETERODERA ROSTOCHIENSIS* WOLL.) MET DIMETHYLCARBAMINEZUURESTERS (*)

door

J. Van den Brande, R. H. Kips en J. D'Herde

In vorige onderzoekingen (9, 10) werd aangetoond dat vloeibare bodemfumigantia, mits de behandeling in wel bepaalde voorwaarden uit te voeren, met succes kunnen aangewend worden voor de bestrijding van het aardappelcystenaaltje. Nochtans heeft deze werkwijze in de praktijk weinig of geen ingang gevonden. De voornaamste redenen hiervoor zijn enerzijds de hoge kostprijs van de gebruikte chemicaliën en anderzijds de omslachtigheid van de toepassing die opnieuw de kostprijs van de behandeling nadelig beïnvloedt. Alhoewel de bestaande apparatuur voor de toepassing van vloeibare bodemfumigantia voor wat de bereikte uitslagen betreft voldoening geeft, is ze in vele opzichten nog voor verbetering vatbaar. Daarenboven zal het aanschaffen van dergelijk materiaal vooral op kleine bedrijven, steeds zeer bezwaarlijk blijven.

De laatste tijd is men dan ook gaan zoeken naar nematiciden in vaste vorm of heeft men getracht de vloeibare produkten aan een vaste draagstof te binden (5, 6).

Reeds in 1940 beproefde Goffart (1) het produkt ,,Cystogon'' in veldproeven tegen het aardappelcystenaaltje. Hij bekwam hierbij met 100 à 150 g per m^2 een gunstige nematicide werking zonder schade aan de plantengroei en stelde daarenboven een nawerking vast. Nochtans kon geen definitief besluit nopens de waarde van het produkt getrokken worden.

In dit kader bleek het interessant dit preparaat aan een grondig laboratorium en veldonderzoek te onderwerpen, met als voornaamste doel de invloed van de bijzonderste milieufaktoren op de eventuele nematicide werking na te gaan. Gezien de bekomen uitslagen in vroegere onderzoekingen met andere

(*) Cystogon : 10% dimethylcarbaminezuuresters. Bayer A. G. Gorsac, N.V.

nematiciden (8, 9, 10), werd voornamelijk aandacht besteed aan het watergehalte van de bodem, het verspreidingsvermogen in de grond en de toepassingswijze. Kalkcyanamide werd ook in het onderzoek betrokken, daar in de literatuur vele tegenstrijdige gegevens voorkomen nopens de waarde van deze meststof in de bestrijding van het aardappelcystenaaltje.

I. — Laboratoriumonderzoek

In een eerste reeks proeven werd de inwerking nagegaan van de dampen op de cysten volgens een vroeger beschreven techniek (8). Cystogon en kalkcyanamide werden droog, respectievelijk vochtig, getest op droge en vochtige cysten. De inwerkingsduur varieerde van 1 tot 16 dagen. De proeven werden uitgevoerd bij kamertemperatuur. De lokproeven op de aldus behandelde cysten gaven na twee maand volgende uitslagen (Tabel 1).

TABEL I

Aantal gelokte larven per 20 cysten na 60 dagen
Number of larvae hatched per 20 cysts after 60 days

	Droog produkt				Vochtig produkt			
Inwerkingsduur in dagen	Vochtige cysten		Droge cysten		Vochtige cysten		Droge cysten	
	A	B	A	B	A	B	A	B
1	5011	—	4871	—	4275	3213	4961	3170
2	4042	—	4715	—	3834	21	3417	2200
4	3684	911	3107	3670	1396	0	331	—
8	3711	0	3568	2331	29	0	0	0
16	179	0	4638	4332	0	0	0	0
Controle ...	4731	2844						

A = Cystogon B = kalkcyanamide

Uit deze cijfers blijkt vooreerst dat ook hier de vochtigheidstoestand van de cysten een zeer belangrijke faktor is voor het optreden van de nematicide werking, zoals vroeger reeds duidelijk aangetoond werd voor DD (8, 9). Alleen de cijfers voor het droog produkt laten deze conclusie toe, daar met het vochtig produkt in de gesloten ruimte de cysten niet droog kunnen gehouden worden.

Anderzijds blijkt dat de nematicide dampen beter ontstaan na menging van beide produkten met water. Met Cystogon vochtig wordt op vochtige cysten een duidelijke vermindering waargenomen

van het aantal gelokte larven na 4 dagen en treedt volledige doding op van de cysteninhoud tussen 8 en 16 dagen.

Bij kalkcyanamide zijn deze cijfers respectievelijk 2 en 4 dagen. Met de droge produkten wordt met Cystogon zelfs na 16 dagen geen volledige doding bekomen, met kalkcyanamide na 8 dagen.

Deze cijfers tonen ook aan dat in deze proefomstandigheden kalkcyanamide beter werkt dan Cystogon. Ter vergelijking kan worden aangegeven dat in dezelfde omstandigheden op vochtige cysten met DD na 20 minuten 100% doding bekomen wordt.

In een volgende proevenreeks werden de cysten gedurende 1, 2, 3 en 4 dagen in suspensies van beide produkten gebracht bij concentraties van 0,5 en 1%. De suspensies werden homogeen gehouden met behulp van een schudapparaat. Na inwerking werden de cysten grondig gespoeld en op leefbaarheid onderzocht. De uitslagen zijn samengebracht in tabel II.

TABEL II

Aantal gelokte larven per 20 cysten na 60 dagen
Number of larvae hatched per 20 cysts after 60 days

Concentratie	0,5%		1%	
Inwerkingsduur in dagen	A	B	A	B
1	1946	–	364	–
2	896	2078	84	333
3	306	—	52	—
4	146	18	27	0
Controle . . .	3870	4381		

A = Cystogon B = kalkcyanamide

In deze proef bleken beide produkten in grote trekken een zelfde aktiviteit te bezitten alhoewel slechts met kalkcyanamide 100% doding kon bekomen worden en wel na 4 dagen. In dezelfde proefomstandigheden geeft DD bij 0,4% na 60 minuten 100% doding.

Tenslotte werden bakproeven aangelegd met duinzandgrond volgens een vroeger beschreven methode (9). De produkten werden enerzijds toegediend in een punt op 20 cm diepte, anderzijds homogeen gemengd in de bovenste 20 cm. De dosis was 200 g/m^2.

De proeven werden uitgevoerd bij kamertemperatuur, met luchtdroge en met vochtige grond (watergehalte 11,5%). Na

twintig dagen inwerking werden de cysten aan lokproeven onderworpen.

In alle gevallen werd in een luchtdroge grond niet de minste invloed van beide chemicaliën vastgesteld. Bij vochtige grond, met de produkten gelocaliseerd in één punt werd, zelfs in de onmiddellijke nabijheid van de produkten, normale uitkomst van larven uit de cysten vastgesteld. Bij homogeen mengen in de bovenste 20 cm werd alleen in de behandelde laag een nematicide werking vastgesteld zoals blijkt uit tabel III.

TABEL III

Aantal gelokte larven per 20 cysten na 60 dagen
Number of larvae hatched per 20 cysts after 60 days

	Bovenlaag (20 cm behandeld)			Onderlaag (niet behandeld)
	1 cm diepte	10 cm diepte	20 cm diepte	
Cystogon...........	13	0	0	4170
Kalkcyanamide.......	1634	1849	1540	3880

Dit alles toont aan dat geen van beide produkten zich merkbaar verspreid in de bodem. Immers, bij toepassing in één punt, wordt geen doding van cysteninhoud vastgesteld zelfs in de onmiddellijke nabijheid van het produkt en bij homogene verdeling in de bovenlaag wordt niet de minste invloed vastgesteld onder de behandelde laag. Een gelijkmatige menging door de te behandelen grondlaag is dus ongetwijfeld een belangrijke vereiste bij de eventuele toepassing van deze middelen. Merkwaardig is wel dat Cystogon hier belangrijk beter werkt dan kalkcyanamide, in tegenstelling met hetgeen in de hoger beschreven laboratoriumproeven werd vastgesteld. Deze betere werking is de reden waarvoor, in de eerste plaats, Cystogon in veldproeven werd getest.

II. — Veldproeven

Begin oktober 1954 werden te Lombardsijde twee proefvelden met Cystogon aangelegd in duinzandgrond. Het watergehalte van de bodem op het ogenblik der behandelingen bedroeg 11,5%, de bodemtemperatuur was 14° C op 20 cm diepte. Alle percelen werden begin Mei met bintjes beplant en begin September geoogst. De wortels voor onderzoek naar nieuwgevormde cysten werden verzameld op 12 Juli. Volgende criteria werden onderzocht :

1. Leefbaarheid der cysten verzameld uit grondmonsters genomen 20 dagen na de behandeling.
2. Aantal nieuwgevormde cysten op de wortels, omgerekend per gram droog wortelgewicht;
3. Knolopbrengsten.

A) In een latijns vierkant van 4 op 4 werden 3 toepassingswijzen met elkaar vergeleken.

1. Inrakelen van 100 g cystogon per m² in één maal;
2. Inrakelen van 2 maal 50 g cystogon met 8 dagen tussenruimte en spitten op 20 cm diepte vóór de toepassing van de tweede helft.
3. Toedienen van 4 g per plantgat.

Tabel IV geeft een samenvatting van de bekomen uitslagen.

TABEL IV

	Gelokte larven per 20 cysten na 6 dagen *Number of larvae hatched per 20 cysts after 6 days*	Nieuwgevormde cysten per g droge wortel *Newly formed cysts per g of dry root*	Knolopbrengst per struik in g *Yield per plant in g*
100 g/m² in één maal ..	2006	1884	355
100 g/m² in tweemaal .	2881	2867	325
4 g/plantgat	—	1508	105
Getuige	2280	4694	275

a) Knolopbrengst

Voor het 0,05% punt is een belangrijke meeropbrengst vast te stellen voor de 2 gestrooide percelen t.o.v. toepassing van 4 g per plantgat maar niet t.o.v. de controle. Zelfs bij het 0,1% punt zijn de opbrengsten van de gestrooide percelen niet belangrijk verschillend van de controle, doch komt het verbrandingseffect door de behandeling à 4 g per plantgat t.o.v. de controle duidelijk tot uiting.

b) Nieuwgevormde cysten

De toepassing 100 g/m² strooien in één maal gaf een merkbare vermindering van het aantal nieuwgevormde cysten per gram droge wortel t.o.v. de controle. Bij de behandeling in 2 maal worden geen belangrijk verschillende cijfers bekomen.

De behandeling à 4 g per plantgat gaf belangrijk minder nieuwgevormde cysten t.o.v. de controle. De vaststelling verliest echter

zeer veel van zijn waarde als men rekening houdt met het feit dat, door het verbrandingseffect, de wortelvorming zeer abnormaal was. De lage cijfers voor nieuwgevormde cysten worden dan ook niet weerspiegeld in de opbrengstcijfers, wat normaal het geval zou moeten zijn.

c) Grondmonsteronderzoek

De lokproeven op cysten afkomstig uit grondmonsters genomen 20 dagen na de behandeling gaven voor alle monsters normale uitkomsten, zodat de lokproef reeds na 6 dagen kon worden stopgezet. Hieruit moet worden besloten dat na 20 dagen inwerking geen dodende werking op de cysteninhoud merkbaar is.

B) In een bijkomende proef werd cystogon toegediend à 100 en 200 g/m². Deze hoeveelheden werden in éénmaal uitgestrooid en ingefreesd op 20 cm diepte, waarna de grond lichtjes werd gerold. Het geheel werd opgevat als een oriënterende proef, waarbij geen herhalingen werden aangelegd.

TABEL V

	Gelokte larven per 20 cysten na 60 dagen *Number of larvae hatched per 20 cysts after 60 days*	Nieuwgevormde cysten per g droge wortel *Newly formed cysts per g of dry root*	Knolopbrengst per struik in g *Yield per plant in g*
100 gr/m²	2124	1995	365
200 gr/m²	303	995	765
Getuige	3457	4694	286

De bekomen resultaten voor wat de leefbaarheid der cysten, nieuwgevormde cysten per gram droge wortel en knolopbrengst betreft, tonen eens te meer aan dat het toedienen van 100 g cystogon per m² niet of zeer weinig nematicied werkt.

Bij de toediening van 200 g/m² werden in vergelijking met de getuige duidelijk minder aaltjes gelokt uit de cysten der grondmonsters en tevens veel minder nieuwe cysten per gram droge wortel gevormd. De opbrengsten per struik liggen in evenredigheid hoger dan deze van het getuige perceel, alhoewel ook bij de behandeling met 200 g/m² nog geen normale knolopbrengst verkregen werd.

Het toedienen van DD à 4 l/a in een zelfde besmette grond

met watergehalte van ± 12% maakt knolopbrengsten van 1,5 kg en meer per struik mogelijk.

Hieruit kan worden afgeleid dat zelfs het toedienen van 200 g cystogon per m², verdeeld over de bovenste 20 cm van de bouwlaag een onvoldoende aaltjesdodende werking uitoefent.

Ondanks de reeds besproken voordelen verbonden aan het gebruik van vaste bodemnematiciden, moet uit voorgaande proeven besloten dat „Cystogon" in de praktijk voor de bestrijding van het aardappelcystenaaltje in zandgrond moeilijk in aanmerking kan komen.

SAMENVATTING

„Cystogon" werd in laboratorium en veldproeven onderzocht naar zijn nematicide werking t.o.v. het aardappelcystenaaltje. In de laboratoriumproeven werd kalkcyanamide ter vergelijking ingeschakeld.

Ondanks de vele voordelen verbonden aan het gebruik van vaste stoffen voor bodembehandeling en een goede merkbare nematicide werking in duinzandgrond bij infrezen van 200 g/m² op 20 cm diepte bij een optimum watergehalte (11,5%) valt uit deze proeven te besluiten dat „Cystogon" voor de bestrijding van het aardappelcystenaaltje in de praktijk voor zandgronden moeilijk in aanmerking kan komen.

RESUME

Effet nématicide d'esters de l'acide diméthylcarbamique sur le nématode doré de la pomme de terre (*Heterodera rostochiensis* Woll.)

Des essais en laboratoire et sur champ ont été effectués afin de déterminer la valeur nématicide du produit „Cystogon". En laboratoire la cyanamide de chaux a été soumise aux mêmes essais.

Malgré les nombreux avantages que présente l'emploi de matières solides pour le traitement du sol et l'action nématicide marquée en terrain sabloneux en incorporant uniformément le produit à 200 gr/m² sur 20 cm de profondeur en conditions idéales de teneur en eau du sol (11,5%), il ressort de ces expériences que le „Cystogon" pourra dans la pratique difficilement venir en ligne de compte pour la lutte contre le nématode doré de la pomme de terre sur terrains sabloneux.

SUMMARY

Control of the potato root eelworm (*Heterodera rostochiensis* Woll.) with esters of dimethylcarbamic acid

Experiments have been carried out to determine the nematicidal value of ,,Cystogon'' against the potato root eelworm. Calcium cyanamide was included for comparison.

In spite of the many advantages pertaining to the use of solids for soil treatment and the marked activity shown in dune sand soil when incorporating the compound at 200 g/m² at a depth of 20 cm under optimum conditions of soil moisture content (11,5%) it must be concluded that ,,Cystogon'' is unlikely to be of any practical value for the control of the potato root eelworm in sandy soils.

ZUSAMMENFASSUNG

Bekämpfung der Kartoffelnematoden mit Dimethylcarbaminesäure Ester

In Laboratorium und Feldversuche wurde ,,Cystogon'' auf seine nematizide Wirkung gegen der Kartoffelnematoden geprüft. Zum vergleich wurde Kalkcyanamid in Laboratoriumversuche eingestelt.

Ungeachtet den vielen Vorteilen der Anwendung fester Mittel bei Bodembehandlung und eine gut zu beobachten nematizide Wirkung bei Untermischung von 200 g/m² auf 20 cm Tiefe in Dünensandboden mit optimalen Wassergehalt (11,5 %) führen diese Versuche zum Konklusion dass ,,Cystogon'' für die Bekämpfung der Kartoffelnematoden auf Sandboden in Praxis beschwerlich zu empfehlen ist.

LITERATUUR

1. GOFFART, H. — Ein neues Mittel zur Bekämpfung von Nematoden. *Mitteilungen der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft*, 1951, **64**, p. 1-6.
2. HURST, R. H. & TRIFFITT, M. J. — Calciumcyanamide and other artificial fertilisers in the treatment of soil infected with Heterodera schachtii. *Journal of Helminthology*, 1935, **13**, p. 201-218.
3. HURST, R. H. & FRANKLIN, M. T. — A second series of field experiments in Lincolnshire on the chemical treatment of soil infected with Heterodera schachtii. *Journal of Helminthology*, 1938, **16**, 1, p. 1-4.
4. HURST, R. H. — Pot experiments on the chemical treatment of soils infected with the potato and oat strains of Heterodera schachtii. *Journal of Helminthology*, 1938, **16**, 2, p. 61-66.
5. SASSER, J. N. & NUSBAUM, C. J. — The use of vermiculite as a carier for volatile liquid fumigants to control nematodes. *Plant disease Reporter*, 1954, **38**, 2, p. 65-67.
6. TAYLOR, A. L. & MORGAN GOLDEN, A. — Preliminary trials of DD Hi-sil as a soil fumigant. *Plant Disease Reporter*, 1954, **38**, 2, p. 63-64.
7. VAN DEN BRANDE, J., KIPS, R. H., BEHEYT, C. & D'HERDE, J. — Chemische bestrijding van het aardappelcystenaaltje, Heterodera rostochiensis, Woll. *Mededelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent*, 1951, **16**, p. 247-260.
8. VAN DEN BRANDE, J., KIPS, R. H. & D'HERDE, J. — Scheikundige bestrijding van het aardappelcystenaaltje, Heterodera rostochiensis, Woll. *Mededelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent*, 1953, **18**, p. 350-366.
9. VAN DEN BRANDE, J., KIPS, R. H. & D'HERDE, J. — Invloed van de vochtigheid bij de scheikundige bestrijding van het aardappelcystenaaltje, Heterodera rostochiensis, Woll. *Mededelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent*, 1954, **19**, 353-372.
10. VAN DEN BRANDE, J., KIPS, R. H. & D'HERDE, J. — Veldproeven in verband met de invloed van het watergehalte van de bodem en van de bodemtemperatuur bij de scheikundige bestrijding van het aardappelcystenaaltje, Heterodera Rostochensis, Woll. *Mededelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent*, 1954, **19**, p. 765-776.

VELDPROEVEN IN VERBAND MET DE BESTRIJDING VAN HET AARDAPPELCYSTENAALTJE MET DICHLOORPROPAAN-DICHLOORPROPEEN-MENGSEL

door

J. Van den Brande, R. H. Kips
en J. D'Herde

In vroegere onderzoekingen (2, 3) werden de omstandigheden bestudeerd en vastgelegd die een succesvolle nematicide behandeling in zandgrond bepalen. Rekening houdend met deze faktoren werden op het veld zeer hoge dodingscijfers en zeer belangrijke opbrengstverhogingen bekomen. (3) In deze veldproeven werd echter het bestrijdingsmiddel volgens een omslachtige en weinig praktische methode toegediend, teneinde met zekerheid een uniforme verspreiding in de bodem te bekomen.

De invloed van het tijdstip van toepassing op het bekomen eindresultaat is nog een omstreden vraagstuk. Eigen onderzoekingen (2, 3) die aantoonden dat het watergehalte van de bodem om verschillende redenen van doorslaggevend belang is, terwijl de temperatuur binnen zekere grenzen weinig of geen invloed heeft, gaven ons de overtuiging dat indien het watergehalte aan de vereisten voldoet, weinig of geen verschil kan tot uiting komen tussen lente-, zomer- en herfstbehandeling. Goffart (1) bekwam betere resultaten bij voorjaar dan bij najaarsbehandeling, die hij naast de gunstiger klimaatsomstandigheden, hoofdzakelijk toeschrijft aan een grotere aktiviteit van de larven.

De hier beschreven proeven hebben dan ook voornamelijk tot doel na te gaan of met meer praktische toepassingwijzen de zelfde hoge dodingscijfers kunnen bekomen worden en of merkbare verschillen optreden tussen behandelingen uitgevoerd op verschillende tijdstippen.

Proefopzet

In 1954-55 werden veldproeven aangelegd in duinzandgrond waarbij volgende behandelingen werden uitgevoerd.

1. Toepassing half-september (bodemtemperatuur : 14° C op 20 cm, watergehalte 11,5 à 14,5%).

Drie verschillende werkwijzen werden hierbij gevolgd.

a) Nauwkeurige werkwijze met een aangepast maatje;

b) Injektie met de pall-injektor;

c) Gebruik van een eigen geconstrueerd apparaat met constand debiet gemonteerd op een ploeg.

In alle gevallen werd DD gebruikt aan 6 l/are. Tevens werd het produkt ook in 2 halve dossisen toegepast (2 × 3 l) met een tussenpoos van 10 dagen, voorafgegaan door omspitten en werd de faktor al of niet bedekken van de bodem na de behandeling hierin verwerkt. Hiertoe werd bruin inpakpapier gebruikt.

Het proefveld waarbij de toepassing tijdens het ploegen gebeurde werd opgevat als een blokkenproef met drie herhalingen, de overige als twee latijnse vierkanten 4 × 4.

2. Toepassing einde November en begin April (Bodemtemperatuur 4 à 5° C. Watergehalte respectievelijk 13% en 15,5%).

Bij deze proeven werd alleen de nauwkeurige toepassingsmethode met het aangepaste maatje aangewend. Verder werden dezelfde faktoren onderzocht als bij de zomerbehandeling en verwerkt in latijnse vierkanten 4 × 4.

Na elke behandeling werden de percelen geëffend en lichtjes aangedrukt. Alle veldjes waren afgebakend met „eternit" platen ter voorkoming van herbesmetting. Op 4 en 5 mei werden aardappelen (variëteit Bintje) geplant. De grondmonsters voor onderzoek naar de leefbaarheid van de cysteninhoud werden telkens genomen 20 dagen na de behandeling. De aardappelen werden begin September gerooid. De resultaten der lokproeven en de opbrengsten zijn samengebracht in tabellen 1 en 2.

Bijgaande foto's geven een beeld van de stand van het gewas en van de knolopbrengsten.

TABEL I

Aantal gelokte larven per 20 cysten na 60 dagen
Number of larvae hatched per 20 cysts after 60 days

Behandeling	6 l in éénmaal		6 l in tweemaal		6 l in éénmaal + bedekking		Controle
	larven	doding	larven	doding	larven	doding	larven
Maatje zomer	19	99,4	0	100	0	100	3439
Pall-injector zomer	0	100	0	100	0	100	4402
Ploeg zomer	0	100	0	100	14	99,7	3797
Maatje winter	11	99,7	0	100	53	98,4	3457
Maatje voorjaar	132	96,8	0	100	276	93,3	4155

1) Links : getuigeperceel; rechts : behandeld met een op de ploeg gemonteerd apparaat.

Left : untreated. Right : treated with tractor mounted equipment.

2) Opbrengst aan martkbare knollen per 130 struiken. Links : met ploeg behandeld perceel. Rechts : getuigeperceel.

Yield in tubers ready for marketing per 130 plants. Left : treated with tractor mounted equipment. Right : untreated.

TABEL 2

Opbrengsten per struik in kg — Yield per plant in kg

Behandeling	6 l in éénmaal	6 l in tweemaal	6 l in éénmaal + bedekking	Controle
Maatje zomer	1,320	1,210	1,340	0,255
Pall-injector zomer	1,350	1,530	1,440	0,234
Ploeg zomer	1,554	1,477	1,623	0,142
Maatje winter.......	1,536	1,562	1,401	0,239
Maatje voorjaar	1,246	1,286	1,083	0,213

Bespreking der resultaten

In de eerste plaats valt uit de bekomen resultaten onmiddellijk af te leiden dat met de meer praktische toepassingswijzen nl. pall-injector en ploeg minstens even goede uitslagen bekomen worden als met de omslachtige doch meer nauwkeurige werkwijze.

Immers, met beide werkwijzen wordt 100% doding bekomen zowel bij de enkelvoudige als de gesplitste toepassing en zijn de opbrengsten van dezelfde grootteorde als bij gebruik van het gestandardiseerd maatje (ongeveer 1,5 kg/struik tegenover 0,2 kg/struik voor de controle).

De bekomen cijfers tonen ook duidelijk aan dat het tijdstip der behandeling (voorjaar, zomer of najaar) van geen invloed is op de bereikte dodingscijfers en opbrengsten. Alleen de voorjaarsbehandeling geeft iets minder gunstige uitslagen (doding 99%, lagere opbrengsten) wat echter aan de hand van de proefomstandigheden kan verklaard worden. Het watergehalte van de bodem op het ogenblik der behandeling was te hoog (15,5%) en vlak voor de behandeling werd stalmest ondergespit. Deze beide faktoren hebben als gevolg een minder goede verspreiding en een langer vasthouden van de gassen, wat duidelijk tot uiting kwam in een merkbare groeivertraging bij het opkomend gewas. Deze invloed van een organische bemesting voor de behandeling werd ook reeds door Goffart (1) gesignaleerd. Dit wijzigt nochtans de uiteindelijke conslusie niet, daar zelfs in een voorjaarsbehandeling, uitgevoerd in ideale omstandigheden, moeilijk betere resultaten zouden kunnen bekomen worden dan deze vastgesteld voor zomer- en najaarsbehandeling.

Voor de praktijk kan uit deze proeven worden afgeleid dat een scheikundige bestrijding van het aardappelcystenaaltje in duinzandgrond met DD-mengsel, om op het even welk tijdstip van het jaar kan worden uitgevoerd, vorstperiode uitgezonderd, als het watergehalte van de bodem op het ogenblik der behandeling maar de gewenste waarde bereikt (10-12%).

SAMENVATTING

Veldproeven in duinzandgrond met dichloorpropaan-dichloorpropeen-mengsel toonden aan dat zowel met de pall-injector als met een op de ploeg gevestigd apparaat zeer goede bestrijding van het aardappelcystenaaltje kan bekomen worden.
Het tijdstip der behandeling (voorjaar, zomer of najaar) heeft geen invloed op het eindresultaat als het watergehalte van de grond maar de gewenste waarde bereikt (10-12%).

RESUME

Essais de lutte en plein champ contre le nématode doré de la pomme de terre, avec le dichloropropane-dichloropropene

Des essais sur champ effectués en terrain sabloneux (sable des dunes) avec un mélange de dichloropropane-dichloropropene, ont démontré qu'on peut obtenir d'ecxellents résultats dans le controle du nématode doré de la pomme de terre, aussi bien avec le pall-injecteur qu'avec un appareil à débit constant monté sur la charrue. Ces essais permettent également de conclure que la période d'application (printemps, été ou automne) n'influence pas le résultat final pourvu que la teneur en eau du sol au moment du traitement atteint le niveau désiré (10-12%).

SUMMARY

Field trials with dichloropropane-dichloropropene for the control of the potato root eelworm

Field trials in dune sand soil have shown that excellent control upwards of 99% kill can be obtained with the pall-injector and with a constant flow apparatus mounted on the plough. These experiments led to the conclusion that the time of application (spring, summer and autumn) does not influence the final result of the treatment if the water content of the soil at the time of application reaches the desired level (10-12%).

ZUSAMMENFASSUNG

Feldversuche über die Bekämpfung der Kartoffelnematoden mit Dichlorpropan-Dichlorpropen Mischung

Feldversuche in Dünensandbodem mit Dichlorpropan-Dichloropropen Mischung haben gezeigt dass sehr hohe Abtötungen, entweder mit dem Pall-injector oder mit einem auf dem Pflug montierten Apparat erzielt werden können.

Das Resultat wird nicht durch den Zeitpunkt (Frühjahr-Sommer-Nachsommer) der Behandlung beeinflüsst, wenn der Bodemwassergehalt nur optimal (10-12%) ist.

LITERATUUR

1. GOFFART, H. — Erfahrungen mit DD und mit P_4 bei der Bekämpfung von Kartoffelnematoden (Heterodera rostochiensis Woll.). *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, 1954, **6**, 11, pp. 161-166.
2. VAN DEN BRANDE, J., KIPS R. H. & D'HERDE, J. — Invloed van de vochtigheid bij de scheikundige bestrijding van het aardappelcystenaaltje, Heterodera rostochiensis, Woll. *Mededelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent*, 1954, **19**, 353-372.
3. VAN DEN BRANDE, J, KIPS, R. H. & D'HERDE, J. — Veldproeven in verband met de invloed van het watergehalte van de bodem en van de bodemtemperatuur bij de scheikundige bestrijding van het aardappelcystenaaltje, Heterodera rostochiensis Woll. *Mededelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent*, 1954, **19**, p. 765-776.

DE NEMATICIDE WERKING VAN N 244 (3-P-CHLOORPHENYL-5-METHYL-RHODANINE) EN VAN N 521 (3-5-DIMETHYL-TETRAHYDRO-1-3-5-2H THIADIAZINE-2THION)

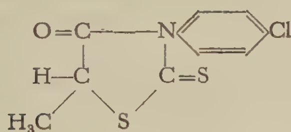
door

J. D. Bijloo

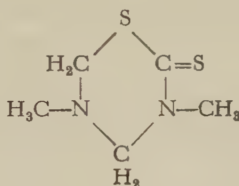
Wageningen

In het kader van de Werkgroep Onderzoek Bestrijding Aardappelcystenaaltje T.N.O. werden met enige in de Verenigde Staten ontwikkelde nematiciden in 1954 en 1955 proeven gedaan ter bestrijding van het aardappelcystenaaltje (*Heterodera rostochiensis*). De resultaten, welke met twee van deze preparaten verkregen werden zullen hier aan een korte beschouwing onderworpen worden.

Het preparaat N 244 bevat 50% 3-p-chloorphenyl-5-methyl-rhodanine (I); het preparaat N 521 bevat 90% 3-5-dimethyl-tetrahydro-1-3-5-2H-thiadiazine-2thion (II) (*)



I



II

Nadat beide preparaten *in vitro* op de cysten van Heterodera rostochiensis een gunstige nematicide werking getoond hadden, werden zij in het voorjaar van 1954 in kleine veldproeven nader onderzocht. Hiertoe werden op een geïsoleerd liggend kunstmatig met een aardappelcystenaaltje besmet proefveld op lichte zandgrond betonnen planken tot een diepte van 60 cm in de grond geplaatst. Hierdoor ontstonden vierkante bakken zonder bodem met een oppervlakte van 1,2 m^2. Nadat in de bakken een onderlaag van onbesmette zeer lichte zandgrond was gestort, werd hierop

(*) Deze preparaten werden beschikbaar gesteld door de Fa G. Ligtermoet.

een bouwvoor van 25 cm besmette gemengde zandgrond aangebracht. Na het bezakken van de grond werden de preparaten door inspitten zo intensief mogelijk door de grond verdeeld. Drie weken na de behandeling werd nogmaals gespit, terwijl een week later iedere bak met 5 pootaardappelen bepoot werd. Op dat moment rook de grond in beide gevallen nog vrij sterk naar de ontsmettingsmiddelen of hun ontledingsprodukten. Uit iedere bak werd door 40 prikken met een grondboor een grondmonster tot een diepte van 20 cm gestoken, waaruit na intensieve menging een tweede monster getrokken werd. De in dit monster aanwezige cysten werden met behulp van de Fenwick-kan (Fenwick 1940) opgespoeld en in het laboratorium gedurende 13 weken met vers gewonnen aardappelwortel-excreet geactiveerd. Hierbij bleek, dat het preparaat N 521 ook in de grond zijn goede nematicide werking behouden had; echter bleek tevens dat alle pootaardappelen in de met dit middel ontsmette grond gedood waren. De stof is dus zelfs een maand na de behandeling nog zeer phytotoxisch gebleken. De nematicide werking van het praparaat N 244 daarentegen bleek bij toepassing in de grond zeer sterk teruggelopen te zijn, gezien de betrekkelijk geringe doding van de cysten volgens het activeringsonderzoek. De in deze bakken gepote aardappelknollen kwamen zeer onregelmatig en ten opzichte van de onbehandelde veldjes sterk vertraagd boven de grond. Ook hier bleek dus het middel phytotoxische nawerking te tonen, alhoewel in iets mindere mate dan het eerste preparaat.

Op grond van deze ervaringen werden in het najaar van 1954 een aantal proefbakken opnieuw gevuld met besmette grond en werden de volgende behandelingen in 3 herhalingen uitgevoerd :

11 g, 22 g en 33 g N 521 — 90% actief ingespit per m²	(dug in)
33 g en 44 g N 521 — 90% actief alleen gestrooid per m²	(scattered on the top of the soil)
120 g en 180 g N 244 — 50% actief ingespit per m².	(dug in)
50 cc DD per m² geïnjecteerd op 16 punten per proefbak	(injected)
Onbehandeld.	(Check)

De toestand van de grond op het moment van ontsmetting was als volgt :

Grondtemperatuur 10° C

Vochtgehalte 11,3%, dat is 0,3 van de watercapaciteit.

Organische stofgehalte (gloeiverlies) 4,3%.

Samenstelling : lichte, ijzerhoudende zandgrond.

Het inspitten geschiedde door de helft van de benodigde hoeveelheid van het preparaat, vermengd met zand over de grond te verdelen en in te spitten, waarna het tweede gedeelte op dezelfde wijze werd toegevoegd. Bij de bakken, welke alleen bestrooid

werden, werd het preparaat, om verstuiving door de wind tegen te gaan, slechts oppervlakkig ingeharkt. De invoering van deze objecten geschiedde op de overweging, dat het middel N 521 in de voorgaande proeven in betrekkelijk lage concentraties goed gewerkt had, terwijl de lange phytotoxische nawerking wellicht een aanwijzing zou kunnen zijn voor een eveneens langdurige nematicide werking. Dit gevoegd bij de ervaring, dat de verbinding partieel wateroplosbaar is, zou voldoende voorwaarde kunnen zijn om de stof met het regenwater door de grond te doen verdelen. Na de ontsmettingen op 29 october 1954 bleef het proefveld zonder verdere behandeling tot het voorjaar liggen. Opvallend was het geheel ontbreken van onkruid op de met DD, N 244 en N 251 behandelde veldjes. Op 28 april 1955 werd iedere bak bepoot met 5 pootaardappels van het ras Noorderling (E 35/45 mm), terwijl tevens een normale kunstbemesting voor aardappelen werd toegediend. Op dit moment had de grond van de met N 244 behandelde perceeltjes nog een tamelijk duidelijke anijsachtige geur (vergelijk parachloorphenylisothiocyanaat). De bakken met de hoge concentraties N 521 behandelde grond hadden nog een licht afwijkende geur. Tijdens het poten werd uit iedere bak met behulp van een grondmonsterboor een grondmonster van 40 prikken genomen, waaruit in het laboratorium na intensief mengen een monster grond van 100 g (B) getrokken werd. De hierin aanwezige cysten werden gedurende 3 en 13 weken geactiveerd met vers gewonnen aardappelwortelexcreet, waarbij de uitgekomen larven wekelijks werden afgezogen en per monster opgeslagen in buizen met formaline. Aan het einde van de lokperioden werden door het tellen van monsters uit deze buizen het totaal aantal geactiveerde larven bepaald (tabel 1, kolom 3 en 4).

Voor het begin van de proef in het najaar van 1954, waren op dezelfde wijze grondmonsters (A) gestoken. Met behulp van de door de auteur (Bijloo 1954) ontwikkelde homogenisatormethode was de besmettingsgraad van de grond per bak bepaald en uitgedrukt in het aantal aanwezige levenskrachtige eieren en larven in de cysten per 100 g grond (tabel 1, kolom 2). Gedurende het groeiseizoen werd enige malen de stand van het gewas beoordeeld (8/6, 18/6, 12/7). Op 14 september 1955 werd de opbrengst van het gewas per bak bepaald en werden wederom grondmonsters (C) gestoken, waaruit op dezelfde wijze als bij A de besmettingsgraad na het gewas bepaald werd.

Figuur 1 en 2 geven een overzicht van een aantal behandelde veldjes. Duidelijk blijkt de gunstige stand en ontwikkeling van het gewas bij de N 521-behandelingen t.o.v. onbehandeld.

Tevens is te zien, dat het gewas bij de N 244-behandelingen sterk onregelmatig is en achterblijft. Dit gevoegd bij de zwart-

groene kleur van de planten op deze veldjes en de nog duidelijke geur van de grond wijst op ernstige phytotoxische nawerking

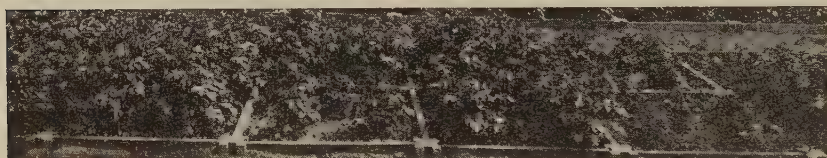
Plaat 1 : Stand van het aardappelgewas na grondontsmetting met N521.
Impression of the potato--crop after eelworm control with N521.
(Foto : Plantenziektenkundige Dienst)

N521—44 gr/M²
gestrooid/scattered.

Onbehandeld
Check

N521—33 gr/M²
ingespit/dug in

Plaat 2 : Overzicht van enige grondontsmettingsproeven tegen het aardappelcystenaaltje.
Some golden eelworm control experiments.



33 gr N521/M² gestrooid/scattered — 33 gr N521/M² ingespit/dug in — 11 gr N521/M² ingespit/dug in — 33 gr N521/M² gestrooid/scattered — 120 gr N244/M² ingespit/dug in

11 gr N521/M² ingespit/dug in — 22 gr N521/M² ingespit/dug in — 120 gr N244/M² ingespit/dug in — 50 cc DD/M² geïnjecteerd/injected — Onbehandeld Check

van dit middel. In de loop van het seizoen begon het gewas zich hier langzaam te herstellen, waardoor bij het einde van de groeiperiode de planten op de met dit preparaat behandelde proefbakken nog niet geheel waren afgestorven. Ook de toename van de standcijfers (tabel 1, kolom 4) wijst in dezelfde richting.

In tabel 1 zijn de gemiddelden van de 3 herhalingen per object weergegeven. Daar zoals vermeld de proefbakken met gemengde grond gevuld waren, waardoor een betrekkelijk geringe

Gemiddelde van 3 herhalingen per behandeling — Means of three replecates per treatment

Toegediende hoeveelheid preparaat per m² *Grams of preparation per m²*	Besmettingsgraad voor de behandeling : aantal eieren en larven in de cysten van 100 g grond (A) *Degree of infestation before treatment : number of eggs and larvae in the cysts per 100 g of soil (A)*	Aantal geactiveerde larven (3 weken) uit de cysten per 100 g grond (B) voorjaar 1955 *Number of larvae hatched (3 weeks) from the cysts of 100 g of soil (B) spring* 1995	Aantal geactiveerde larven (13 weken) uit de cysten per 100 g grond (B) voorjaar 1955 *Number of larvae hatched (13 weeks) from the cysts of 100 g of soil (B) spring* 1955	Stand van het gewas op 8/6, 18/6, 12/7 *Impression of the crop at* 8/6, 18/6, 12/7	Opbrengst in grammen per 5 aardappelplanten *Yield of 5 potato-plants in grams*	Besmettingsgraad na het gewas : aantal eieren en larven in de cysten van 100 g grond (C) *Degree of infestation after the crop : number of eggs and larvae in the cysts per 100 g of soil (C)*
11 gr N521–90% ingespit/*dug in*	19.617	29,3	54,6	8,2 8,3 8,0	3155	5.352
22 g N521–90% ingespit/*dug in*	15.816	0	14,3	8,0 8,3 8,5	3478	5.108
33 g N521–90% ingespit/*dug in*	18.649	0	0,6	7,8 7,8 8,3	3857	2.687
33 g N521–90% gestrooid/*scattered*	17.633	59,3	67	8,2 8,3 8,4	3580	6.770
44 g N521–90% gestrooid/*scattered*	17.967	2	5	7,8 8,0 8,3	4042	3.818
50 cc DD geinjecteerd/*injected*	13.475	212	429	7,2 7,2 7,8	3135	5.404
120 g N244–50% ingespit/*dug in*	21.846	1.601	2.495	3,8 5,5 7,2	2728	11.330
180 g N244–50% ingespit/*dug in*	18.343	1.453	2.255	3,3 4,3 6,5	2498	13.983
Onbehandeld/*Check*	21.697	14.665	16.952	2 3,3 4,3	1135	14.554

fluctuatie in de besmettingsgraad aanwezig was, terwijl ook de spreiding in de andere gegevens gering was, werd een nadere statistische analyse van de cijfers niet nodig geoordeeld.

Uit kolom 3 en 4 blijkt duidelijk, dat het preparaat N 521 een zeer goede nematicide werking gehad heeft, doch dat bij langdurige lokking 13 weken in het laboratorium meer larven te lokken zijn dan bij korte lokking (3 weken). Bij een stijgende dosering neemt het aantal nog lokbare larven af, terwijl de opbrengst toeneemt. Ook de standcijfers wijzen op een goede ontwikkeling van het gewas. De opbrengst bij de dosering 33 g N 521 — gespit is voor de grondsoort, waarop het proefveld ligt ongeveer normaal voor onbesmette grond, welke goed bemest is. Het zou echter onjuist zijn de opbrengsten van deze kleine veldjes om te rekenen naar grote oppervlakte-eenheden.

Ook strooien van het preparaat blijkt een goede doding van de cysten veroorzaakt te hebben. Daar steeds tot een diepte van 20 cm bemonsterd werd, lijkt hiermede aan de bij de opzet van de proeven gestelde praemisse voldaan te zijn. Het middel en/of de daaruit door omzetting ontstane verbindingen bljken voldoende wateroplosbaar en tevens lang genoeg haar nematicide werking te behouden om tot op flinke diepte werkzaam te zijn. Het spreekt vanzelf, dat dit proces geruime tijd in beslag neemt.

In vergelijking tot DD heeft het preparaat N 521, zowel gespit in lage dosering als gestrooid, zeer gunstig gewerkt. Hierbij moet echter opgemerkt, dat de omstandigheden voor de verspreiding van DD, gezien de vrij lage grondtemperatuur betrekkelijk ongunstig waren, terwijl dit voor N 521 met het oog op haar werkingsmechanisme juist gunstig was.

Onverwacht hoog is de besmettingsgraad na het gewas bij al de tot hiertoe besproken objecten. Bij de verklaring van dit verschijnsel moet de nadruk gelegd worden op het volgende. De besmettingsgraad van de grond vóór de proef was op dit proefveld kunstmatig bijzonder hoog opgevoerd. Gemiddeld over alle velden waren 180 eieren en larven per gram grond aanwezig. Hoewel de doding door het preparaat reeds in de lage, doch vooral ook in de hoge doseringen bijzonder gunstig is geweest, blijven er volgens het activeringsonderzoek toch altijd nog larven ter beschikking en wel meer naarmate er langer gelokt wordt. Het is niet ondenkbaar, dat een actief groeiend aardappelgewas in staat is gedurende haar gehele groeiperiode meer larven uit de cysten te lokken dan in het laboratorium mogelijk bleek. De toeneming van de lokgetallen bij langere lokking geven althans steun aan deze gedachte. Deze gelokte larven vinden zonder enige concurrentie de gunstigst denkbare voedingsbodem op het zich uitstekend ontwikkelende gewas (vergelijk stand- en opbrengst-

cijfers). Bij de onbehandelde percelen zien we juist het omgekeerde. Hier is de aantasting door de larven zo massaal, dat de plant ernstig geschaad wordt (vergelijk stand en opbrengst), waardoor het grootste aantal der larven geen voedingsbodem vindt en vermoedelijk te gronde gaat. Peters (1953) berekent, dat in dergelijke gevallen minstens 96% van de larven ten dode opgeschreven is. In onze blanco proefbakken, welke met een volslagen misgewas bezet waren, bleek zelfs geen volledige reproduktie van het aaltje mogelijk.

Hetzelfde was ook het geval in de met het preparaat N 244 behandelde bakken. Uit de activeringscijfers blijkt, dat dit preparaat zelfs in de zeer hoge doseringen nog onvoldoende gewerkt heeft. Uit de reeds hierboven vermelde toeneming van de stand van het gewas met de vordering van het seizoen, blijkt duidelijk de langdurige phytotoxische werking van het middel bij deze concentraties, zelfs na herfsttoediening. Ook de ongunstiger stand en opbrengst bij de hoogste dosering wijzen in dezelfde richting.

Duidelijk komt bij de bespreking van deze proeven het grote belang naar voren van een vergelijking van de besmettingsgraad van de grond vóór de proef met die na het gewas. Van belang zijn hierbij de gegevens van het activeringsonderzoek, de stand van het gewas en de opbrengst. De hoge reproductie van het aardappelcystenaaltje bij zeer lage besmettingsgraden beïnvloedt een geslaagde chemische bestrijding van dit aaltje wel zeer ongunstig. Vermoedelijk veel gunstiger is dit bij de bestrijding van nietcystevormende wortelaaltjes. Ter oriëntering werd na het beeindigen van de proef met behulp van 50 prikken met een grondmonsterboor van ieder perceeltje een grondmonster van ongeveer 1,5 kg genomen. In het laboratorium werd van ieder monster na menging een hoeveelheid van 500 g grond gespoeld met de door Seinhorst (1956) ontwikkelde spoelmethode. Alle uit dit monster gespoelde aaltjes van de soorten Pratylenchus pratensis en Hoplolaimus uniformis werden geteld. In de onderstaande tabel is een samenvatting gegeven van de gemiddelde tellingen uit de 3 herhalingen van de met N 521 behandelde objecten.

Hoewel de besmettingsgraad van deze aaltjes vóór de proef dus niet bekend was, zijn de grote verschillen tussen behandelingen en onbehandeld voldoende aanleiding om een goede werking van N 521 ook op deze aaltjes aan te nemen. Tevens is er aanleiding aan te nemen, dat de reproductie van deze aaltjes op het aardappelgewas zeer gering is geweest.

Of de gebruikte middelen de smaak van de er op gegroeide aardappelen beïnvloeden, is nog in onderzoek en zal naderhand elders worden gepubliceerd.

TABEL 2

Gemiddeld aantal Pratylenchus pratensis en Hoplolaimus uniformis per 500 g grond, na het beeindigen van de proef

Mean number of Pratylenchus pratensis and Hoplolaimus uniformis per 500 g of soil, at the end of the experiment

Toegediende hoeveelheid preparaat per m² *Grams of preparation per m²*	Aantal Pratylenchus pratensis *Number of Pratylenchus pratensis*	Aantal Hoplolaimus uniformis *Number of Hoplolaimus uniformis*
11 g N521–90% ingespit/*dug in*.....	2,7	4,7
22 g N521–90% ingespit/*dug in*.....	2,7	4,3
33 g N521–90% ingespit/*dug in*.....	1,3	0,7
33 g N521–90% gestrooid/*scattered*..	0,3	5,3
44 g N521–90% gestrooid/*scattered*..	0,3	1
Onbehandeld/*Check*	253,3	127

Tenslotte moge er op gewezen worden, dat deze gunstige resultaten verkregen werden op zeer goed doorlaatbare, lichte zandgrond. Of de verdeling van het middel op minder goed doorlatende kleigronden of gronden met een hoog organische stofgehalte (bv. dalgronden) even gunstig is, zal nader experimenteel moeten worden vastgesteld.

Een woord van dank is op zijn plaats aan de dames P. A. M. Boogaers, N. Gretmann en A. E. E. van den Bergh-van Ees voor het uitvoeren van de vele analyses.

SAMENVATTING

In 1954 en 1955 werden op kleine veldjes, die door betonnen planken van elkaar gescheiden zijn, grondontsmettingsproeven aangelegd ter bestrijding van het aardappelcystenaaltje. Bij ontsmettingen met de preparaten N 244 (3-p-chloorphenyl-5-methyl-rhodanine) en N 521 (3-5-dimethyl-tetrahydro-1-3-5-2H-thiadiazine-2thion) in het voorjaar van 1954 bleken beide verbindingen lange phytotoxische nawerking te vertonen. In het najaar van 1954 werden opnieuw ontsmettingen in 3-voud uitgevoerd. Naast inspitten werd het preparaat N 521 ook boven op de grond alléén gestrooid met de bedoeling, dat het zich met het regenwater door de grond zou verdelen.

Uit tabel 1 blijkt, dat de verbinding N 244 op de proefveldjes onvoldoende aaltjesdodend heeft gewerkt, terwijl het tevens een zeer lange phytotoxische nawerking vertoonde. N521, zowel gespit als gestrooid, heeft een goede nematicide werking gehad, gepaard gaande met een goede stand en opbrengst van het gewas, resulterend in betrekkelijk hoge besmettingsgraden na de proef.

Het verschil in gehalte aan Pratylenchus pratensis en Hoplolaimus uniformis in de grond na het aardappelgewas (tabel 2) op de verschillende met N 521 behandelde proefveldjes maakt het aannemelijk, dat dit preparaat ook op deze nematoden goed dodend gewerkt heeft.

SUMMARY

Nematicidal action of N 244 (3-p-chlorophenyl-5-methylrhodanine) and of N 521 (3-5-dimethyl-tetrahydro-1-3-5-2H-thiadiazine-2thion).

Experiments to control the potato-root eelworm (*Heterodera rostochiensis*) were made on microplots during 1954 and 1955. The compounds N 244 (3-p-chloro-phenyl-5-methylrhodanine) and N 521 (3-5-dimethyl-tetrahydro-1-3-5-2H-thiadiazine-2thione) proved to be very phytotoxic after application to the soil in the spring of 1954. Experiments were made again with three replicated plots in the autumn of 1955. The compounds were dug into the soil; N 521 also was scattered on the top of the soil to see if it could be washed in by rain.

Table 1 shows insufficient control and long lasting phytotoxic action of the compound N 244. The compound N 521 dug in

or scattered, on the top of the soil showed a good nematicidal action, resulting in a good potato crop and a good yield.

Reproduction of the eelworm, however, seemed to be very high owing to the high degree of infestation after harvest. At that time the infestation rate of Pratylenchus pratensis and Hoplolaimus uniformis on the N 521-treatments appeared to be very low (table 2). Thus these non-cystforming species seemed to be controled very well.

LITERATUUR

BIJLOO, J. D. — 1955, *Meded. Landbouw. Opzoek. Stat. Gent.* XX, 291-300.

FENWICK, D. W. — 1940, *Journal Helminthology* **18**, 155-172.

PETERS, B. G. — 1953, *Am. Pot. Journal* **30**, 226.

SEINHORST. J, W. — 1956, *Nematologica* **1**, (3) (in druk).

EEN VERGELIJKING VAN DE NEMATICIDE WERKING VAN DD EN VAN 3-5-dimethyltetrahydro-1-3-5-2H-thiadiazine-2-thion

door

J. W. Seinhorst, J. D. Bijloo*
Mej. C. H. Klinkenberg

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek Wageningen, Nederland

Inleiding

Tot voor kort was bij de nematiciden de keus beperkt tot een aantal gehalogeneerde koolwaterstoffen. De voornaamste waren DD, dibroomethaan en chloorbroompropeen. De werking berust bij al deze middelen op dezelfde principes. Nadat ze op een zekere diepte in de grond gebracht zijn in vloeistofvorm verdelen ze zich daarin in dampvorm. Daar ze phytotoxisch zijn, moeten ze weer uit de grond verdwenen zijn, wanneer er geplant of gezaaid wordt. Ook het transport van deze nematiciden uit de grond moet in dampvorm plaats hebben. De bruikbaarheid hangt er nauw mee samen of de temperatuur van de grond ten tijde, dat de behandeling moet plaats hebben, de juiste is. Bij te hoge temperatuur verdwijnt het middel te snel uit de grond, bij te lage temperatuur wordt de noodzakelijke wachttijd tussen behandeling en planten te lang.

Voor gebruik in de volle grond in de gematigde luchtstreken is DD het meest geschikte nematicide uit deze groep. Met dit middel wordt een optimaal effect bereikt, wanneer de temperatuur van de grond 12°-15° C is en het vochtgehalte 1/2 tot 3/4 van het vochtequivalent. Bij lagere temperatuur is er kans op een zeer lange phytotoxische nawerking (Besemer en Oostenbrink, 1955). Deze schijnt niet alleen met een trage verdamping samen te hangen, maar ook met adsorptie aan de grond. Om het risico van schade aan het gewas zo klein mogelijk te maken is het gewenst een DD behandeling niet voor april en niet later dan in september uit te voeren. Daar na de behandeling nog vier tot zes weken met zaaien of planten gewacht moet worden, kan dit leiden tot

(*) Thans N.V. Philips Roxane.

het ongebruikt moeten laten van de grond in een tijd, die al (in het voorjaar) of nog (in de herfst) gebruikt kan worden voor de teelt van een gewas. Bij de kosten van het toe te passen middel en die van het in de grond brengen komt daardoor nog een opbrengstverlies, dat vrij aanzienlijk kan zijn. Dit probleem is o.a. urgent bij de bestrijding van zwart wortelrot in aardbeien, veroorzaakt door *Pratylenchus penetrans* en die van een ziekte in peen, die vermoedelijk veroorzaakt wordt door *Hoplolaimus uniformis*.

Om bovengenoemd bezwaar niet te hebben, zou een nematicide nog met goede resultaten toegepast moeten kunnen worden na midden oktober zonder schade te veroorzaken aan een gewas, dat in maart d.a.v. gezaaid of geplant wordt.

Het middel 3-5-dimethyltetrahydro-1-3-5-2H-thiadiazine-2-thion (N 521), waarmee door Bijloo (1956) zeer gunstige resultaten bereikt werden bij de bestrijding van het aardappelcystenaaltje, leek aan deze eisen te kunnen voldoen. De werking van dit middel tegen Hoplolaimus uniformis en Pratylenchus pratensis werd daarom in een veldproef nader onderzocht en vergeleken met DD.

Opzet van de proef

De proef voor de vergelijking van DD en N 521 werd aangelegd op een perceel bouwland op lichte zandgrond met 4% humus te Hoeven (N. Br.). Onderzocht werd de werking van drie doses DD (*) (12,5 cm^3/m^2, 25 cm^3/m^2 en 50 cm^2/m^2), drie doses N 521 (*) (3,25 g/m^2, 7,5 g/m^2 15 g/m^2) door inspitten door de bouwvoor verdeeld, en drie doses N 521 (7,5 g/m^2, 15 g/m^2 en 30 g/m^2) na strooien door de bovenste 5 cm van de grond geharkt. Elk dezer objecten werd in viervoud aangelegd op veldjes van 3 × 3,7 m^2. Acht veldjes werden onbehandeld gelaten.

Om nauwkeurig te doseren werd voor het toedienen van de DD geen injector gebruikt, maar werden 12 gaten van 12 cm diepte per m^2 gemaakt waarin de gewenste hoeveelheid DD gebracht werd met een pipet. Om snel de juiste dosis te kunnen afmeten was op deze pipet een injectiespuit bevestigd (fig. 1). Om de zuigerstang van de injectiespuit was een stukje rubberslang geschoven. Dit verhinderde de zuiger hoger dan een bepaalde stand te komen, daar dan deze rubberslang tegen de metalen dop van de injectiespuit stootte. De lengte van het stukje slang werd zo gekozen, dat het verschil in volume tussen de laagste en de hoogste stand van de zuiger juist de gewenste dosis DD was. Om de zuiger gemakkelijk met de duim op en

(*) De DD werd ter beschikking gesteld door N.V. Shell Nederland, het N521 door de Fa. G. Ligtermoet.

neer te kunnen bewegen was op de kop van de zuigerstang een beugeltje aangebracht.

Fig. 1. — Pipet bevestigd aan injectiespuit.

a rubber slang voor het stuiten van de zuiger zodra bepaald volume vloeistof is opgezogen.

Pipette attached to hypodermic syringe.

a rubber tube for stopping upward movement of piston when certain volume of liquid has been sucked up.

Nadat de DD in een gat was gebracht werd dit met de voet dichtgedrukt.

Bij het inspitten van de N 521 werd eerst de helft van de toe te dienen hoeveelheid, gemengd met wat vochtige grond, uitgestrooid. Daarna werd gespit en tenslotte werd de tweede helft van het middel uitgestrooid en flink diep ingeharkt. Voor het oppervlakkig aanbrengen van de N 521 werd het, na uitstrooien, met de hark zo goed mogelijk door de bovenste 5 cm van de grond verdeeld.

De behandeling, zowel met DD als met N 521, werd uitgevoerd op 3 september 1955. De grond was toen juist door een regenbui bevochtigd. De temperatuur op 10 cm diepte was 22° C, wat bijzonder hoog is voor die tijd van het jaar.

De Bemonstering

Het effect van de behandelingen op de aaltjes werd nagegaan door het onderzoek van monsters genomen op vier data : één voor (3-9-'55) en drie na de behandeling (24-10-'55, 20-1-'56 en 9-3-'56). Bij deze bemonsteringen werd telkens per veldje één monster genomen samengesteld uit 80 steken met de grondboor tot 20 cm diepte. Het gewicht per steek was ongeveer 20 g. De grond werd in polytheen zakken naar het laboratorium vervoerd. Binnen ongeveer een week na de bemonstering werd, na zeven en mengen, per monster 500 g grond onderzocht en de hieruit afgescheiden aaltjes werden verzameld in 5 cm^3 water, (Seinhorst, 1956). Uit deze suspensies werd telkens zoveel maal 1 cm^3 onder-

zocht tot van elk der te tellen soorten minstens 100 exemplaren gevonden waren of de gehele 5 cm³ doorzocht was.

Grondmonsters moeten zo snel mogelijk na het nemen onderzocht worden. Bij bewaring kan het aantal aaltjes vrij snel dalen en worden de bepalingen dus onbetrouwbaar. Aaltjes-suspensies in water kunnen daarentegen zonder bezwaar enkele weken in de koelkast bij 1° C bewaard worden, als er tot de Tylenchida behorende soorten geteld moeten worden. Andere soorten o.a. *Dorylaimoidea* sterven ook in schoon water vrij spoedig.

Bij proeven over aaltjes moet er steeds rekening mee worden gehouden, dat de besmettingsgraden op verschillende delen van het proefveld zeer verschillend kunnen zijn. Zo varieerde op het proefveld te Hoeven de besmettingsgraad per veldje bij de eerste bemonstering voor *Hoplolaimus uniformis* van 515 exemplaren per 500 g grond tot 2775 exemplaren per 500 g grond en voor *Pratylenchus pratensis* van 17 exemplaren per 500 g grond tot 955 exemplaren per 500 g grond. Een vraag was, welk deel van deze variatie op rekening kwam van de onregelmatige verspreiding van de aaltjes over het veld en welk deel ontstaan was door de wijze van bemonsteren. Om dit te onderzoeken werden in maart 1956 op twee veldjes op het proefveld resp. 9 en 10 monsters genomen op de boven beschreven wijze. Door bepaling van de aantallen *H. uniformis* en *P. pratensis* in deze monsters werd een indruk gekregen van de betrouwbaarheid van de bemonstering. De resultaten zijn vermeld in tabel 1.

TABEL 1

Variatie-coëfficiënten van aantallen aaltjes per monster
Variation coefficients of numbers of eelworms per sample

	Veldje 1 *Plot* 1		Veldje 2 *Plot* 2	
	Aantal (gem. v. 9 monsters) *Number (mean of 9 samples)*	var. coëff. van de enkele bepaling *var. coeff. of single determination*	Aantal (gem. v. 10 monsters) *number (mean of 10 samples)*	var. coëff. van de enkele bepaling *var. coeff. of single determination*
Hoplolaimus uniformis	601	18%	538	18%
Pratylenchus pratensis	221	20%	136	19%

Hoewel men zeer voorzichtig moet zijn met het toepassen van op enkele veldjes verkregen gegevens op andere veldjes en op bemonsteringen op andere tijdstippen, kan met behulp van

tabel 1 toch wel de conclusie getrokken worden, dat een belangrijk deel van de verschillen in de besmettingsgraden die op de verschillende veldjes gevonden werden, niet toegeschreven kan worden aan de wijze van bemonsteren, maar het gevolg is van het voorkomen van verschillende aantallen aaltjes op de verschillende veldjes. Anders zou de variatie-coëfficiënt van elke afzonderlijke bepaling geen 18%, maar 40% zijn geweest, zoals bleek uit een berekening met de resultaten van de eerste bemonstering. De uit een ontsmettingsproef te trekken conclusies worden dus belangrijk betrouwbaarder, wanneer de besmettingsgraden van de ver-

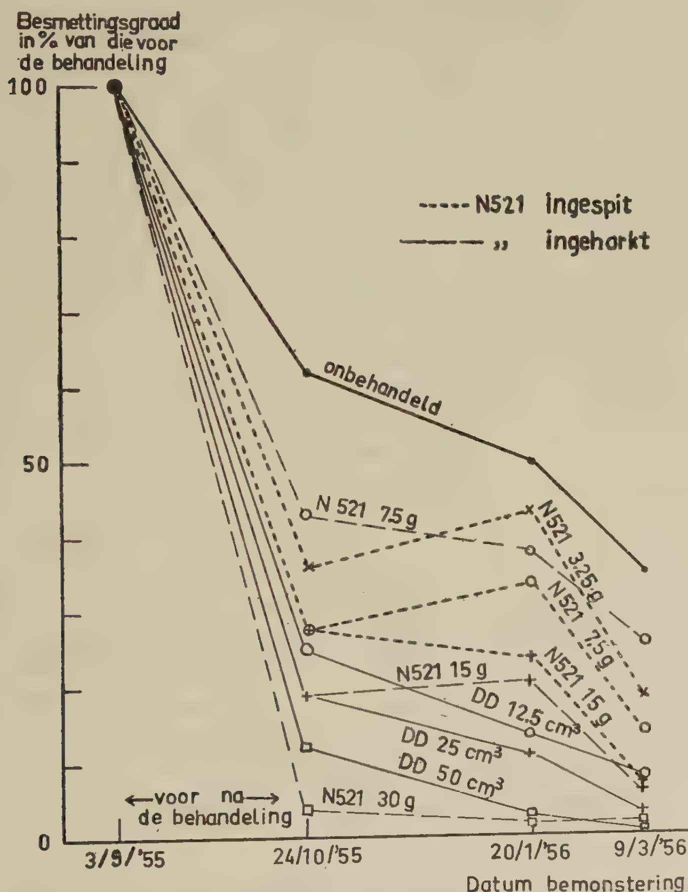


Fig. 2. — Het effect van behandelingen van de grond met DD en met N521 op *Hoplolaimus uniformis*.

The effect of soil treatments with DD and with N521 on *Hoplolaimus uniformis*.

schillende veldjes na de behandeling met die voor de behandeling vergeleken kunnen worden. Uit de besmettingsgraden van on-

behandelde veldjes op dezelfde tijdstippen kan de natuurlijke afsterving bepaald worden en hiermee kan zo nodig bij de interpretatie van de gegevens verkregen op de behandelde veldjes rekening gehouden worden.

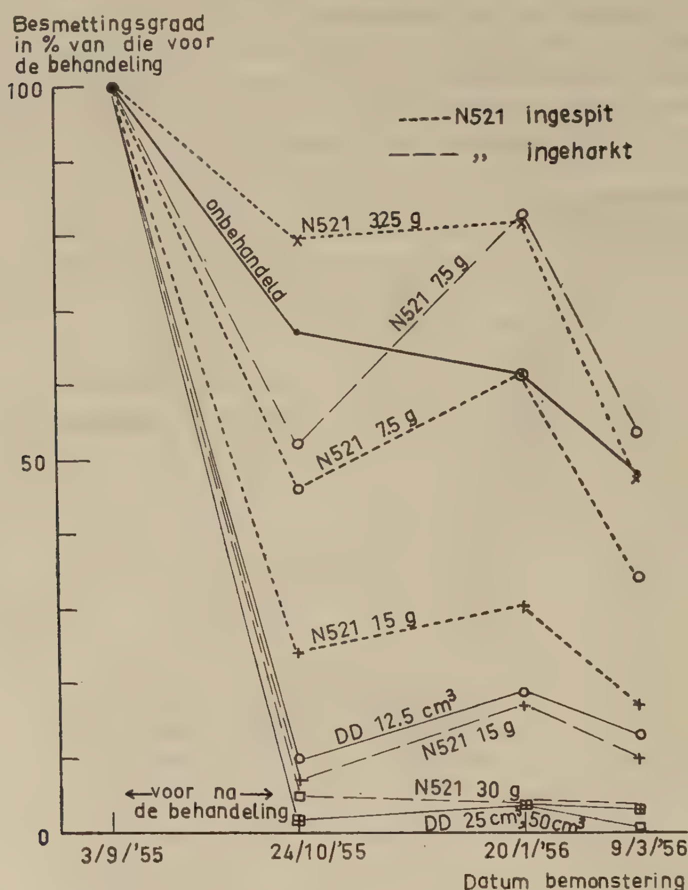


Fig. 3. — Het effect van behandelingen van de grond met DD en met N521 op *Pratylenchus pratensis*

The effect of soil treatments with DD and with N521 on *Pratylenchus pratensis*.

De resultaten der bemonsteringen zijn vermeld in de tabellen 2 en 3 en in de figuren 2 en 3. De in de tabellen vermelde aantallen zijn de sommen van de besmettingsgraden (aantal aaltjes per 500 g grond) der vier veldjes per object. In de grafieken zijn deze sommen omgerekend tot percenten van sommen der besmettingsgraden per object voor de behandeling. Bij deze wijze van berekenen hebben de veldjes met een hoge besmettingsgraad

TABEL 2

Aantallen Hoplolaimus uniformis en Pratylenchus pratensis voor en na behandeling met DD en N521 op het proefveld te Hoeven (N. Br)

Numbers of Hoplolaimus uniformis and Pratylenchus pratensis before and after treatment with DD and N521 in the field experiment at Hoeven (N. Br.).

	Hoplolaimus uniformis				*Pratylenchus pratensis*			
	Voor behandeling *Before treatment*	Na behandeling *After treatment*			Voor behandeling *Before treatment*	Na behandeling *After treatment*		
	3 sept. '55	24 okt. '55	20 jan. '55	9 maart '56	3 sept. '55	24 okt. '55	20 jan. '56	9 maart '56
andeld/*Untreated*								
I	4767	3975	2925	3070	1543	1221	875	594
II	6960	3892	4300	2485	1569	696	671	488
12.5 cm_3/m^2	4285	435	833	540	1775	452	256	149
25 cm_3/m^2	5340	97	193	156	1456	283	166	48
50 cm_3/m^2	4900	108	197	52	1577	187	41	19
ingespit/*spaded in*								
3,25 g/m^2	5115	4052	4135	2404	1401	510	600	263
7,5 g/m^2	5355	2470	3290	1837	1752	494	599	238
15 g/m^2	5680	1349	1691	941	1001	280	237	75
ngeharkt/*raked into top 2'*								
7,5 g/m^2	4020	2089	3308	2130	1515	650	585	400
15 g/m^2	7180	514	1214	728	1942	370	407	114
30 g/m^2	5253	272	207	187	1497	55	34	35

Alle getallen zijn sommen van de besmettingsgraden (aantal aaltjes per 500 g grond) van de vier herhalingen per object.

All numbers are the sums of the degrees of infestation (number of eelworms in 500 g of soil) of the four replicates of each treatment.

een wat te grote invloed op de gevonden percentages. De bij de bemonstering van 20 januari gevonden besmettingsgraden werden eveneens per veldje omgerekend in percenten van de uitgangsbesmettingsgraad. De gemiddelde percentages per object, die hieruit berekend werden verschilden niet belangrijk van die, welke voor de grafieken gebruikt werden. Daarom werd bij de andere series deze tijdrovende bewerking achterwege gelaten.

Bespreking der resultaten

Het blijkt, dat de lage doses N 521 (3,25 g/m² en 7,5 g/m²) vrijwel geen nematicide werking hebben gehad. De werking van 15 g N 521 per m² komt overeen met die van 12,5 cm³ DD per m² en die van 30 g N 521 per m² met 25 cm³ en 50 cm³ DD per m². De wijze van toedienen van het N 521, inspitten of oppervlakkig inharken, heeft geen grote invloed op de werking van het middel gehad.

Uit de grafieken blijken nog enkele merkwaardige verschijnselen. Zo vertonen de besmettingsgraden met *H. uniformis* op vrijwel alle behandelde veldjes tussen 24 oktober 1955 en 20 januari 1956 een stijging. Ook al wordt aangenomen, dat de bepalingen op 24 oktober 1955 alle te lage getallen hebben opgeleverd (wat niet waarschijnlijk is) dan nog blijft er een verschil bestaan in het verloop van de besmettingsgraden op de onbehandelde en de behandelde velden. Een verklaring van dit verschijnsel zou kunnen zijn, dat op 24 oktober 1955 het N 521 nog niet uitgewerkt was en, door de intensieve menging van de grond bij de bemonstering, in de monsterzakken nog een aaltjesdodende werking heeft kunnen uitoefenen, die op het veld niet optrad. Een andere mogelijkheid is de migratie der aaltjes naar beneden en terugkeer nadat het N 521 uitgewerkt was. Migratie, vooral van grote aaltjessoorten, onder invloed van een ontsmettingsmiddel werd ook gevonden door Thorne (1951).

Ook bij *Pratylenchus pratensis* treedt bovengenoemd verschijnsel op bij de objecten met lage doses N 521.

Bij vergelijking van beide grafieken blijkt, dat *Pratylenchus pratensis* anders op de DD-behandeling gereageerd heeft dan *Hoplolaimus uniformis*. Zes weken na de behandeling was de besmettingsgraad bij *Hoplolaimus* veel sterker gedaald dan bij *Pratylenchus*. Bij *Hoplolaimus* trad daarna weer enige stijging op. Bij *Pratylenchus* zette de daling zich voort. Als aangenomen wordt, dat de natuurlijke daling, wanneer er geen behandeling was uitgevoerd, dezelfde zou zijn geweest als nu op de onbehandelde veldjes, dan waren op 10 oktober 1955 bij 12,5 cm³, 25 cm³ en 50 cm³ DD per m² nog resp. 15%, 3% en 3% over van het aantal *Hoplolaimus*, dat zonder behandeling gevonden zou zijn en op 9 maart 1956 resp. 28%, 13% en 2%. Bij *Pratylenchus* zijn deze percentages bij dezelfde volgorde der behandelingen op 10 oktober 1955: 40%, 30% en 20% en op 9 maart 1956: 20%, 8% en 3%. De dodende werking van DD op *P. pratensis* schijnt dus zes weken na de behandeling nog niet zijn maximum effect bereikt te hebben, maar nog enige maanden door te werken.

De schrijvers willen hier hun dank uitspreken aan de Heer Bartels te Hoeven voor zijn hulp bij het uitvoeren van de proef en aan Mej Venis, Mej. Hille Ris Lambers en de Heer Mulholland voor hun assistentie bij het onderzoek van de grondmonsters in het laboratorium.

SUMMARY

A comparison of the nematicidal properties of DD and of 3-5-dimethyltetrahydro-1-3-5-2H-thiadiazine-2-thione

Among the halogenated carbohydrates DD is the nematicide which is most suitable for Western European conditions. However, as it should not be used at low soil temperatures a treatment with this chemical has to be done in periods which are still suitable for growing a crop. This may mean the loss of a crop e.g. when a soil has to be treated to control black root rot of strawberries caused by *Pratylenchus penetrans*, or other nematode diseases of vegetable crops. For such cases a nematicide is wanted, that can be successfully applied in late autumn and does not damage a crop sown or planted in the following spring.

As the properties of 3-5-dimethyltetrahydro-1-3-5-2H-thiadiazine-2-thione (N 521) seemed to be promising in this respect it was compared with DD in a field experiment on sandy soil. Here comparable doses of both chemicals had almost the same effect on populations of *Hoplolaimus uniformis* and *Pratylenchus Pratensis*. No difference in effectiveness of N 521 was found between mixing this chemical through the soil by spading it in and mixing it through the top two inches only.

The DD treatment reached its maximum effect on *Hoplolaimus uniformis* within six weeks after the application of the chemical. Population numbers of *Pratylenchus pratensis* kept decreasing more rapidly after DD treatment than on untreated plots until the last sampling.

LITERATUUR

BESEMER, A. F. H. en OOSTENBRINK, M. — 1955, Phytotoxische en nematicide nawerking van grondontsmettingen met DD. *Med. Landbouwhogeschool en Opzoekingsstations van de Staat te Gent* **20**, 279-289.

BIJLOO, J. D. — 1956, De nematicide werking van de preparaten N 244 (3-p-chloorphenyl-5 methylrhodanine) en N 521 (3-5 dimethyltetrahydro 1-3-5-2 H-thiadiazine-2 thion. *Med. Landb. hogeschool Opzoekingsstations van de Staat Gent.* **21**, 377-386.

SEINHORST, J.W. — 1956, The quantitative extraction of nematodes from soil. Nematologica I, 249-267

THORNE, G. — 1951, Diffusion patterns of soil fumigants. *Proc. Helminth. Soc. Wash.* **18**, 18-24.

DE NEMATICIDE WERKING VAN Na N-methyl dithiocarbaminaat (Vapam) BIJ TOEPASSING IN DE HERFST

door

Mej. C. H. Klinkenberg en J. W. Seinhorst

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen, Nederland

Een van de nieuwe nematiciden, waarvan verwacht kon worden dat het ook bij lage temperatuur voldoende werkzaam is en dus geschikt voor toepassing in het najaar, is het Natrium N-methyl dithiocarbaminaat dat door de Stauffer Chemical Cy in de V.S. vervaardigd wordt en waaraan de handelsnaam ,,Vapam'' is gegeven (*).

Het is een wit, kristallijn poeder, dat gemakkelijk in water oplost; de geconcentreerde waterige oplossing is stabiel, de verdunde niet. In vochtige grond wordt ,,Vapam'' ontleed, vermoedelijk tot een vluchtig isothiocyanaat.

Vapam is niet alleen een nematicide, maar het heeft ook fungicide eigenschappen. Persing (ter perse) noemt o.m. goede resultaten tegen Phytophthora cactorum bij begieten van de grond met een oplossing van 10 p.p.m.; ook zou het gunstig werken tegen Verticillium.

De nematicide werking werd onderzocht op twee proefvelden op lichte duinzandgrond, één op de Proeftuin ,,De Duinstreek van Holland'' te Heemskerk (Noord-Holland), de andere te Rockanje, op het eiland Voorne. De proef te Heemskerk is opgezet om de bestrijdingsmogelijkheden na te gaan van zwart wortelrot in aardbeien, dat door Pratylenchus penetrans veroorzaakt wordt. De proef te Rockanje heeft tot doel de bestrijding van Hoplolaimus uniformis, die vermoedelijk de oorzaak is van een ziekte in de peen.

Beide proeven werden in viervoud gedaan; de afmetingen van de veldjes waren te Heemskerk 5×5 m², te Rockanje $2,4 \times 3$ m². In beide gevallen werd gebruikt 12,5 cm³/m², 25 cm³/m² en 50 cm³/m² van Stauffer's Vapam, dat 30% werkzame stof bevat. Het werd met water verdund, totdat er ± 1 liter vloei-

(*) Ter beschikking gesteld door de Fa. Ligtermoet te Rotterdam.

stof per m² verkregen was. Dit werd met een gieter op de grond gebracht. Te Heemskerk werd het proefveld na de behandeling, die 18 november 1955 plaats vond, gefreesd; te Rockanje werd ondiep gespit na de toediening van Vapam op 4 november 1955.

Er is eenmaal vóór en eenmaal na de behandeling bemonsterd. De wijze van bemonsteren en het verdere onderzoek is beschreven door Seinhorst, Bijloo en Klinkenberg (1956).

De volgende tabellen geven de resultaten van de beide proeven.

Ontsmettingsproef met Vapam op duinzandgrond te Rockanje

Experiment with Vapam on light dune sand at Rockanje

Behandeling / *Treatment* : 4 november 1955

	Hoplolaimus uniformis			*Pratylenchus*		
	Voor de behandeling (20–10–55)	Na de behandeling (6–3–56) aantal	Na de behandeling (6–3–56) % van voor de behandeling	Voor de behandeling (20–10–55)	Na de behandeling (6–3–56) aantal	Na de behandeling (6–3–56) % van voor de behandeling
Onbehandeld *No treatment*	5175	3495	68	270	150	56
Vapam 12.5 cm_3/m^2	7385	740	10	244	34	14
Vapam 25 cm_3/m^2	4708	145	3	195	11	6
Vapam 50 cm_3/m^2	5796	44	0.8	397	0	0
	Before treatment	*Number* (*After treatment*)	*% from before treatment* (*After treatment*)	*Before treatment*	*Number* (*After treatment*)	*% from before treatment* (*After treatment*)

Alle aantallen zijn sommen van vier herhalingen.

All numbers are sums of four replicates.

Ontsmettingsproef met Vapam op proefveld „De Duinstreek van Holland" te Heemskerk

Soil desinfection experiment with Vapam at Heemskerk on dune sand

Behandeling : 18 november 1955
Treatment

	Pratylenchus penetrans			*Hoplolaimus uniformis*		
	Voor de behandeling (27–10–55)	Na de behandeling (13–3–56) aantal	Na de behandeling (13–3–56) % van voor de behandeling	Voor de behandeling (27–10–55)	Na de behandeling (13–3–56) aantal	Na de behandeling (13–3–56) % van voor de behandeling
behandeld *treatment*	1367	730	53	2938	967	33
pam 12.5 cm_3/m^2	1672	24	2	2524	31	1.5
pam 25 cm_3/m^2	1081	8	0.7	2316	9	0.4
pam 50 cm_3/m^2	1429	36	2.5	2687	16	0.6
	Before treatment	*Number* (*After treatment*)	*% from before treatment* (*After treatment*)	*Before treatment*	*Number* (*After treatment*)	*% from before treatment* (*After treatment*)

Elk aantal is de som van 4 herhalingen.
Each number is the sum of 4 replicates

In deze zeer lichte zandgrond heeft Vapam dus goed gewerkt; bij de proef te Heemskerk, waar de grond, direct na de toediening van het middel, gefreesd werd, is het resultaat bij alle concentraties zeer goed; bij het gespitte veld te Rockanje is de hoogste concentratie het beste.

Helaas heeft de langdurige koude de groei van de gewassen zodanig geremd, dat er nog geen gegevens over een eventuele phytocide nawerking beschikbaar zijn. Wij hopen met deze stof verder onderzoek te doen. Hierbij zal de methode van toediening in de eerste plaats de aandacht vragen.

De schrijvers betuigen gaarne hun dank aan de heer Riezebos te Oostvoorne en de heer van der Peet te Heemskerk voor hun medewerking bij het uitvoeren van de veldproeven; aan Mej. Venis, Mej. Hille Ris Lambers en de heer Mulholland voor hun hulp bij het laboratoriumwerk.

SUMMARY

The nematicidal properties of Na N-methyl-dithiocarbamate (Vapam) when applied in autumn

Soil desinfection in autumn, with ,,Vapam'' (sodium n-methyl dithiocarbamate). a product of the Stauffer Chemical Cy, against Pratylenchus penetrans and Hoplolaimus uniformis on dune sand gave very satisfactory results.

LITERATUUR

PERSING, C. O. — Use of sodium n-methyl dithiocarbamate in control of pests affecting tobacco (ter perse).

SEINHORST, J. W., BIJLOO, J. D. en KLINKENBERG, C. H. — 1956 Een vergelijking van de nematicide werking van DD en van 3-5-dimethyltetrahydro-1-3-5-2H- thiadiazine-2-thion. Med. Landbouwhogeschool en Opzoekingsstations van de Staat te Gent 21, 387-395.

PROEVEN OP BESTRIJDING VAN SLAKKEN (*AGRIOLIMAX RETICULATUS* Müller)

door

R. Moens en W. E. van den Bruel

Slakken kunnen in bepaalde biotopen en in gunstige klimaatsvoorwaarden zeer schadelijk zijn voor land- en tuinbouw. Gevallen van slakkenschade in de tuinbouw zijn ons overbekend, doch ook op grote culturen en vooral op graangewassen konden wij in bepaalde jaren vrij belangrijke slakkenschade noteren. Dit alles bracht ons er toe een reeks proeven op touw te zetten waarbij de slakdodende werking van verschillende produkten werd onderzocht.

Vooreerst enkele woorden over de hierbij gebruikte onderzoeksmethode. Op het veld werden één of meerdere perceeltjes (2,5 m op 2,5 m) afgezonderd en op hun beurt onderverdeeld in 25 gelijke vierkante vakjes. Deze laatste werden genummerd van 0 tot 4 dit volgens de methode van het latijns vierkant. Onmiddellijk na de behandeling van het perceeltje met het te onderzoeken produkt werden in elk der 5 vakjes " 0 " 2 slakken neergezet en vervolgens overdekt met een bloempot van 20 cm diameter — getuigeperceeltjes hebben inderdaad bewezen dat het micromilieu onder vochtige bloempotten, geplaatst op het veld, uiterst geschikt bleken voor het bewaren van slakken — Deze werkwijze liet ons toe de toestand der proefdieren nauwkeurig te volgen en het effect van een behandeling juist te bepalen uit het percentage der mortaliteit dezer dieren. Dezelfde bewerkingen werden herhaald op de vakjes " 1 ", " 2 ", " 3 ", en " 4 ", doch telkens op verschillende tijdstippen. De vakjes " 1 " werden gewoonlijk bezet 24 uren na de behandeling, de vakjes " 2 " kwamen dan 1 of 2 dagen later aan de beurt, de vakjes " 3 " werden pas na drie of vier dagen gebruikt; tenslotte bleven ons de vakjes " 4 " over om het effect der behandeling te meten na een tijdsverloop van vijf dagen of meer.

Alle onderzochte dieren behoorden tot de soort : *Agriolimax reticulatus* **Müller**, beter gekend als grauwe akkerslak. De resultaten van dit onderzoek zijn samengevat in een reeks tabellen waarop tevens enkele klimatologische gegevens zijn aangebracht n.l. de maxima- en minimatemperaturen en de regenneerslag.

Tijdens een eerste proef, uitgevoerd rond einde augustus begin september 1955, werd de helicide werking onderzocht van een metaldehydesuspensie bevattende 0,12% actieve stof, bespoten op onbewassen grond tegen 5.000 en 10.000 l per ha (zie tabel

Metaldehyde suspensie (0,12% A.S.)

PROEF I : behandeling op 29-8-55								PROEF II : behandeling op 5-9-55					
Data	Klimaat			Mortaliteit %				Data	Klimaat			Mortaliteit %	
	Temperatuur		Neer-slag in mm	Op onbewassen grond		Op klaver			Temperatuur		Neer-slag in mm	Op klaver	
	Max.	Min.		0,5 l per m²	1 l per m²	0,5 l per m²	1 l per m²		Max.	Min.		0,5 l per m²	1 l per m²
29/8	23,1	12,4	0	100	100	100	100	5/9	24.0	13,7	2,0	100	8
30/8	20,5	10,4	0	33	66	100	100	6/9	20,0	9,9	0,3	100	10
31/8	23,5	10,4	0	37	12	100	100	7/9	16,6	11,9	0,9	87	10
1/9	24,0	12,6	0	12	12	75	100	8/9	21,2	11,6	0	75	10
2/9	22,5	13,9	0	0	0	0	37	9/9	23,6	11,5	0	62	10
3/9	22,6	7,8	0	—	—	0	0	10/9	18,0	4,5	0	87	10
4/9	22,0	12,0	0	—	—	—	—	11/9	21,4	8,7	0	—	—
5/9	24,0	13,7	2,0	—	—	—	—	12/9	22,5	8,3	24,3	0	3
6/9	20,0	9,9	0,3	—	—	—	—	13/9	14,4	8,2	9,8	0	[illegible]

van proef I). Volledige doding der slakken werd bereikt onmiddellijk na de behandeling, doch de toxiciteit van het produkt nam zeer snel af, dit onder invloed van de felle zonbestraling waaraan het perceel was blootgesteld. Gelijklopend met deze proef werd een perceel klaver behandeld. Opvallend is dat deze bespuiting zijn volledige werking behield gedurende drie volle dagen, en ook de vierde dag na de behandeling behoorlijke resultaten opleverde. Hieruit kan men afleiden dat de metaldehydesuspensie veel langer werkzaam blijft op bewassen percelen waarvan de grond en de behandelde planten minder blootgesteld zijn aan de zon.

Deze resultaten werden bevestigd door een reeks daaropvolgende proeven uitgevoerd op klaver- en roggevelden gedurende de nog relatief warme periode van september (zie tabel van proeven II, III en IV).

Hieropvolgend onderzochten wij, tijdens de eerste helft van october, de werking van metaldehydepoeders vermengd met zemelen en breedwerpig uitgestrooid op een roggeveld (zie tabel van proef V). De gebruikte doses waren 40, 80, 120 en 160 kg per

Metaldehyde suspensie (0,12% A.S.)

	PROEF III behandeling uitgevoerd op 19-9-55					PROEF IV behandeling uitgevoerd op 29-9-55							
ata	Klimaat			Mortaliteit %		Data	Klimaat			Mortaliteit %			
	Temperatuur		Neerslag in mm	Op klaver			Temperatuur		Neerslag in mm	Op rogge			
	Max.	Min.		0,5 l per m²	1 l per m²		Max.	Min.		0,5 l per m²	1 l per m²	0,5 l per m²	1 l per m²
9/9	17,9	5,0	0	100	100	29/9	16,7	6,6	d.	100	100	100	100
0/9	22,3	8,4	0	100	100	30/9	18,0	7,6	0,7	100	100	87	100
1/9	25,4	13,0	0	100	100	1/10	15,6	1,8	0	100	100	87	100
2/9	24,6	14,1	0	87	100	2/10	17,3	6,7	0	—	—	—	—
3/9	25,6	14,5	0	75	87	3/10	17,0	6,5	0	75	100	62	87
4/9	19,5	11,2	0	—	—	4/10	16,3	5,6	0	50	25	0	50
5/9	20,1	12,8	3,0	—	—	5/10	15,3	8,7	4,7	0	0	12	12
6/9	17,3	8,2	0	25	37	6/10	12,6	8,4	3,4	0	0	0	0
7/9	14,6	8,3	2,3	0	0	7/10	13,6	5,5	0	—	—	—	—
8/9	14,3	7,4	2,6	0	10	8/10	16,6	7,3	0	—	—	—	—

Zemelen + Meta 4%

PROEF V : behandeling uitgevoerd op 7-10-55

Data	Klimaat			Mortaliteit %			
	Temperatuur		Neerslag in mm	Op rogge			
	Max.	Min.		40 kg per ha	80 kg per ha	120 kg per ha	160 kg per ha
7/10	13,6	5,5	0	20	80	70	100
8/10	16,6	7,3	0	10	20	60	100
9/10	18,7	3,7	d.	—	—	—	—
10/10	15,8	3,4	0	0	20	40	30
11/10	19,0	4,4	0	0	30	10	20
12/10	21,3	5,3	0	—	—	—	—

ha van een mengsel bevattende 4% metaldehyde. Bemoedigende resultaten werden genoteerd onmiddellijk na de behandeling vanaf 80 kg per ha, doch volledige doding kon slechts bereikt worden op 160 kg per ha. Een gedeeltelijke nawerking tussen 20 à

Verschillende produkten

(Vergelijking hunner helicide werking)

PROEF VI : behandeling uitgevoerd op 3-11-55									
Data	Klimaat			Mortaliteit %					
	Temperatuur		Neer-slag in mm	Op rogge					
	Max.	Min.		A	B	C	D	E	F
3/11	15,5	4,7	0,2	100	100	90	20	30	80
4/11	17,2	11,7	5,8	100	0	50	30	10	40
5/11	17,5	10,5	d.	60	30	0	0	0	10
6/11	17,7	10,4	d.	—	—	—	—	—	—
7/11	19,8	9,3	d.	40	0	0	—	—	0
8/11	16,2	8,4	3,0	—	—	—	—	—	—
9/11	14,7	8,7	0,3	20	0	0	—	—	0
10/11	12,5	6,9	0	—	—	—	—	—	—
11/11	15,0	5,2	0	0	—	0	—	—	—

PROEF VII : behandeling uitgevoerd op 14-11-55									
Data	Klimaat			Mortaliteit %					
	Temperatuur		Neer-slag in mm	Op rogge					
	Max.	Min.		A	B	C	D	E	F
14/11	7,5	2,5	0	100	100	20	20	20	100
15/11	7,5	-2,7	0	—	—	—	—	—	—
16/11	8,4	-0,4	0,6	90	0	0	0	0	30
17/11	5,2	-1,4	0	—	—	—	—	—	—
18/11	3,5	-1,6	0,2	100	—	—	—	—	0
19/11	7,5	0,9	1,7	—	—	—	—	—	—
20/11	8,0	0,8	2,2	—	—	—	—	—	—
21/11	4,5	2,1	0,3	70	—	—	—	—	—
22/11	7,9	4,0	0,7	—	—	—	—	—	—

A = Kalkcyanamide, 500 kg/ha
B = Ongebluste kalk, 500 kg/ha
C = Metaldehyde suspensie, 0,12% A.S. 0,5 l/m²
D = Zemelen + meta 4%, 100 kg/ha
E = Sylviniet, 500 kg/ha
F = Sylviniet + kopersulfaat 10%, 500 kg/ha

40% doding werd waargenomen zelfs vijf dagen na de behandeling.

In de eerste helft van november werd een nieuwe proef ingericht met als doel de helicide werking van verschillende produkten te vergelijken op roggevelden tijdens de herfstperiode (zie tabel van proeven VI en VII).

De temperatuur was op dit ogenblik gevoelig gedaald. Vergeleken werd : een metaldehydesuspensie bevattende 0,12% actieve stof verspoten tegen 5.000 l per ha, zemelen + meta 4 % breedwerpig uitgestrooid tegen 100 kg. per ha., een mengsel van sylviniet + kopersulfaat 10% in de vorm van gemalen kristallen, sylviniet, ongebluste kalk, kalkcyanamide, telkens tegen 500 kg per ha (zie tabel van proef VI). Opvallend was de uitstekende werking van kalkcyanamide gedurende 2 volle dagen met een krachtige nawerking tot ongeveer vijf dagen na de behandeling. Ongebluste kalk bracht volledige doding onmiddellijk na de behandeling, doch verloor heel spoedig zijn slakdodende werking door opslorping van water uit de bodem.

De metapreparaten bleken tijdens deze periode veel minder actief te zijn; nergens werd volledige doding bereikt en de werking der preparaten nam heel snel af. Signaleren wij tenslotte dat kopersulfaat een zekere helicide werking bezit onmiddellijk na het uitstrooien.

Vorige proef werd herhaald tijdens de periode (14/11–24/11) bij koud en regenachtig weder (zie tabel van proef VII). Opnieuw bleek kalkcyanamide een zeer sterke werking te bezitten. Ditmaal werd volledige doding bereikt tot 4 dagen na de behandeling en bleef het produkt behoorlijk nawerken tot 7 à 8 dagen na het uitstrooien. De metapreparaten verloren practisch alle helicide werking, terwijl kalk en kopersulfaat goed reageerden doch al te spoedig hun toxiciteit zagen verminderen.

Onze aandacht ging dan vanzelfsprekend naar kalkcyanamide, produkt welke het voorwerp uitmaakte van twee daaropvolgende proeven (zie tabellen van proeven VIII en IX). Getracht werd de minimum dosis te bepalen nodig om een doelmatige vernietiging van slakken te bekomen. Deze waarnemingen voerden wij uit tijdens de perioden; (23/11–25/11) en (2/12–6/12) waarvan de klimatologie gekarakteriseerd was door betrekkelijk lage temperaturen en neerslagvlagen. De toegepaste doses waren 50, 100, 200, 300, 400 en 500 kg per ha.

Hieruit volgt dat volledige doding der dieren werd bekomen op 300 kg per ha. De werkingsduur van het produkt bleek minder goed dit tengevolge hevige regens. De doses van 50 kg en 100 kg per ha hebben geen slakdodend effect, terwijl 200 kg per ha een onvoldoende werking bezit.

Samenvattend kunnen wij uit deze proeven volgende besluiten afleiden.

1. Slakken kunnen doelmatig bestreden worden tijdens de

Kalkcyanamide

PROEF VIII : behandeling uitgevoerd op 23-11-56											PROEF IX : behandeling uitgevoerd op 2-12-56										
Data	Klimaat			Mortaliteit %						Data	Klimaat			Mortaliteit %					
	Temperatuur		Neer-slag in mm	Op rogge							Temperatuur		Neer-slag in mm	Op rogge					
	Max.	Min.		50 kg per ha	100 kg per ha	200 kg per ha	300 kg per ha	400 kg per ha	500 kg per ha		Max.	Min.		50 kg per ha	100 kg per ha	200 kg per ha	300 kg per ha	400 kg per ha	500 kg per ha
23/11	7,4	3,6	1,2	0	0	12	100	75	100	2/12	6,0	2,5	0	0	12	87	100	100	100
24/11	5,5	-2,5	14,0	—	—	—	—	—	—	3,12	8,7	3,3	4,0	0	0	12	100	87	100
25/11	3,5	-2,1	1,5	0	0	0	0	0	0	4/12	8,2	2,0	0,3	—	—	—	—	—	—
26/11	4,0	0,9	0,7	—	—	—	—	—	—	5/12	5,9	0,4	d.	—	—	—	—	—	—
27/11	5,4	3,3	0	—	—	—	—	—	—	6/12	6,1	1,2	d.	—	—	0	0	0	0

Metaldehyde suspensie (0,12% A.S.)

(Invloed van het klimaat)

PROEF III					PROEF IV					PROEF VI					PROEF VII				
Data	Klimaat			Mortaliteit %	Data	Klimaat			Mortaliteit %	Data	Klimaat			Mortaliteit %	Data	Klimaat			Mortaliteit %
	Temperatuur		Neerslag in mm	Op klaver		Temperatuur		Neerslag in mm	Op rogge		Temperatuur		Neerslag in mm	Op rogge		Temperatuur		Neerslag in mm	Op rogge
	Max.	Min.		0,5 l per m²		Max.	Min.		0,5 l per m²		Max.	Min.		0,5 l per m²		Max.	Min.		0,5 l per m²
19 9	17,9	5,0	0	100	29/9	16,7	6,6	d.	100	3/11	15,5	4,7	0,2	90	14/11	7,5	2,5	0	10
20 9	22,3	8,4	0	100	30/9	18,0	7,6	0,7	87	4/11	17,2	11,7	5,8	50	15/11	7,5	–2,7	0	—
21 9	25,4	13,0	0	100	1/10	15,6	1,8	0	87	5/11	17,5	10,5	d.	0	16/11	8,4	–0,4	0,6	0
22 9	24,6	14,1	0	87	2/10	17,3	6,7	0	—	6/11	17,7	10,4	d.	—	17/11	5,2	–1,4	0	—
23 9	25,6	14,5	0	75	3/10	17,0	6,5	0	62	7/11	19,8	9,3	d.	0	18/11	3,5	–1,6	0,2	—
24 9	19,5	11,2	0	—	4/10	16,3	5,6	0	0	8/11	16,2	8,4	3,0	—	19/11	7,5	0,9	1,7	—
25 9	20,1	12,8	3,0	—	5/10	15,3	8,7	4,7	12	9/11	14,7	8,7	0,3	0	20/11	8,0	0,8	2,2	—
26 9	17,3	8,2	0	25	6/10	12,6	8,4	3,4	0	10/11	12,5	6,9	0	—	21/11	4,5	2,1	0,3	—
27 9	14,6	8,3	2,3	0	7/10	13,6	5,5	0	—	11/11	14,0	5,2	0	0	22/11	7,9	4,0	0,7	—
28 9	14,3	7,4	2,6	0	8/10	16,6	7,3	0	—	12/11	11,1	1,4	0	0	23/11	7,4	3,6	1,2	—

vegetatieperiode door bespuiting van grond en cultuur op basis van een metaldehydesuspensie. Ons inziens kunnen deze produkten heel nuttig zijn in tuinbouwbedrijven waar intensieve slakkenbestrijding op relatief kleine oppervlakten worden uitgevoerd tijdens de warmere periode van het jaar. Vanzelfsprekend dient hierbij rekening gehouden met de toxiciteit van het produkt bij behandeling van consumptiegewassen.

Op grote culturen, en in het bijzonder op graangewassen, schijnen de metaldehydesuspensies minder interessant te zijn. Vooreerst dient opgemerkt dat de bestrijding van slakken op graangewassen gewoonlijk uitgevoerd wordt in de herfst, periode tijdens dewelke deze dieren schade kunnen berokkenen aan jonge graanvelden. De klimatologische omstandigheden zijn op dat ogenblik zeer nadelig voor een goede werking der meta-preparaten. Hierbij komt nog dat de relatief hoge kostprijs van een behandeling op grote schaal het gebruik van deze produkten minder toegankelijk maakt voor grote culturen zelfs tijdens gunstige weersomstandigheden.

2. Het mengsel zemelen + meta 4%, breedwerpig uitgestrooid is een opzichzelf zeer practisch procédé, waarbij, tijdens de vegetatieperiode, een aanzienlijke massa slakken kan vernietigd worden, op voorwaarde dat de gebruikte dosis minstens 100 kg per ha bedraagt.

De dosis van 40 kg per ha bleek veruit onvoldoende te zijn.

3. Over het algemeen is geconstateerd dat metapreparaten weinig actief zijn in de late herfstperiode, dit tengevolge ongunstige weersomstandigheden.

De vergelijking tussen proeven III, IV en VI toont duidelijk aan dat een regenachtige periode de werking van metaldehyde ongunstig beïnvloedt.

De vergelijking tussen proef IV en proef VII toont aan dat, voor ongeveer gelijke neerslag, een koude periode het effect van een metabehandeling practisch vernietigt.

Neerslag en lage temperaturen verminderen dus gevoelig de slakdodende eigenschappen van de metapreparaten. Deze ongunstige klimatologische omstandigheden komen precies veelvuldig voor in de herfstperiode; zij zijn gekenmerkt door een maximum temperatuur lager dan 10° C, en een minimum temperatuur lager dan 5° C. De vergelijking tussen proef V, proef VI en proef VII, voert ons tot hetzelfde besluit voor wat zemelen + meta betreft.

4. Opvallend is de krachtige helicide werking van kalkcyanamide, produkt dat zelfs tijdens de meest ongunstige weersomstandigheden flinke resultaten oplevert. Zijn zeer hoge graad van doding, gepaard met een lange werkingsduur, maken van kalkcyanamide een geschikt middel om slakken krachtig te bestrijden in alle seizoenen en op alle velden waar de plantengroei

Zemelen + Meta 4 %

(Invloed van het klimaat)

PROEF V						PROEF VI					PROEF VII				
Data	Klimaat			Mortaliteit %		Data	Klimaat			Mortaliteit %	Data	Klimaat			Mortaliteit %
	Temperatuur		Neer-slag-in mm	Op rogge			Temperatuur		Neer-slag in mm	Op rogge		Temperatuur		Neer-slag in mm	Op rogge
	Max.	Min.		80 kg per ha	120 kg per ha		Max.	Min.		100 kg per ha		Max.	Min.		100 kg per ha
7/10	13,6	5,5	0	80	70	3/11	15,5	4,7	0,2	20	14/11	7,5	2,5	0	20
8/10	16,6	7,3	0	20	60	4/11	17,2	11,7	5,8	30	15/11	7,5	-2,7	0	—
9/10	18,7	3,7	d.	—	—	5/11	17,5	10,5	d.	0	16/11	8,4	-0,4	0,6	0
10/10	15,8	3,4	0	20	40	6/11	17,7	10,4	d.	—	17/11	5,2	-1,4	0	—
11/10	19,0	4,4	0	30	10	7/11	19,8	9,3	d.	—	18/11	3,5	-1,6	0,2	—
12/10	21,3	5,3	0	0	0	8/11	16,2	8,4	3,0	—	19/11	7,5	0,9	1,7	—

het gebruik van dit produkt toelaat. Wij citeren hier enkele voorbeelden van toepassing.

a) Op jonge graangewassen tijdens de herfst of in het vroege voorjaar. Zoals hoger werd aangetoond zijn de klassieke methoden op basis van metaldehyde hier ruimschoots onvoldoende. Weliswaar dient er op gewezen dat bij een dosis van 300 kg per ha een overbemesting aan stikstof kan ontstaan. Het uitstrooien van kalkcyanamide tijdens een periode van nachtvorst kan heel wat schade veroorzaken aan het gewas, derhalve dient de bestrijding dan enkele dagen uitgesteld.

b) Velden zijn soms omzoomd met grachten of boorden, dicht bewassen met een weelderig grasmat. Deze biotopen zijn uiterst geschikt voor slakken, waar deze dieren zich ongestoord kunnen vermenigvuldigen. Dergelijke veldboorden zijn een infectiebron voor de aanpalende culturen. Een krachtige en herhaalde behandeling van deze veldranden op basis van kalkcyanamide zou voorzeker het potentieel der slakkenpopulatie gevoelig doen verminderen.

Verdere toepassingsmogelijkheden van kalkcyanamide worden thans onderzocht. Bij dit onderzoek zijn, behalve de reeds behandelde soort : *Agriolimax reticulatus* **Müller**, verschillende niet minder schadelijke soorten betrokken n.l. : *Arion hortensis* **Ferussac**, *Arion circumscriptus* **Johnst.**, *Arion subfuscus* **Drap.** en de *Milax* species.

RESUME

Essais sur la destruction des limaces (Agriolimax reticulatus Müller)

Les auteurs ont effectué une étude comparative sur la valeur hélicide de différents produits. Ils ont constaté entre autres que la cyanamide calcique, à raison de 300 kg/ha, possède un pouvoir hélicide très élevé pendant plusieurs jours (de 4 à 7 jours après l'épandage). Ces propriétés se maintiennent par temps relativement froid et humide, alors que les préparations à base de metaldéhyde ont perdu leur efficacité.

SUMMARY

Control of Slugs (Agriolimax reticulatus Müller)

The authors have performed a comparative study on the efficiency of different compounds. Among other statements, they have observed that calcium cyanamid, at the rate 300 kg/ha, is very active against slugs for several days (4 to 7 days after spreading). These properties are maintained with relatively cold or damp weather, while formulations containing metaldehyde have lost their effectiveness.

DIE IN DER TSCHECHOSLOWAKEI DEN KOHL- UND RAPSPFLANZEN SCHÄDLICHEN RÜSSELKÄFER, UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DES *CEUTHORRHYNCHUS NAPI GYLL.*

von

Václav Kazda

Biologische Anstalt der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften
Phytopathologische Abteilung, Prag

Ausser der Kohlfliege Hylemyia brassicae Bché. und dem Rapsglanzkäfer Meligethes aeneus F. gehören die Rüssler aus den Gattungen Baris Germ. und Ceuthorrhynchus Germ. zu den gefährlichsten Schädlingen der Kulturpflanzen aus der Familie Brassicaceae /Cruciferae/.

Die Baris-Arten sind schon von früher her als Kohlschädlinge nur aus den warmen Gegenden der Südslowakei und des Südmährens bekannt gewesen; sie haben z. B. in der Umgebung Štúrovo's im Jahre 1953 die Kulturen des frühgebauten Blumenkohls beschädigt. Sie haben sich im Zusammenhang mit trockenerem und wärmerem Klimacharakter in den Jahren 1953 und 1954 auch in Böhmen stärker vermehrt. Das regenreiche Jahr 1955 hat ihre weitere Verbreitung und Übervermehrung verhindert.

Auch für die Vermehrung des Gefleckten Kohltriebrüsslers, Ceuthorrhynchus quadridens Panz., waren die klimatischen Bedingungen der Jahre 1953 und 1954 sehr günstig. Dieser Rüssler legt seine Eier in die Blattmittelrippen und Blattstiele der Kohl- und Rapspflanzen ab. Das unter den Eiern sich bildende Wundkallusgewebe „hat die Tendenz," die Eier aus dem Pflanzenkörper herauszudrängen; die Kallusbildung wird durch die Feuchtigkeit unterstützt — es gehen daher beim feuchten Wetter viele Eier des Ceuth. quadridens zugrunde; wenn das Wetter mehr trocken ist, wächst das Wundgewebe langsamer, die Larven entwickeln sich aus den Eiern normal und fressen sich rechtzeitig ins Gewebe der Pflanze ein. Dürre und Wärme — im Zusammenhang mit der geschilderten Reaktion der Pflanze — fördert auf diese Weise die Vermehrung des Ceuth. quadridens /siehe ausführlicher in der Arbeit 1953-b/.

Mehr kompliziert ist der Zusammenhang des Kohlgallrüsslers, Ceuth. pleurostigma Marsh., mit dem Klima und mit den Nährpflanzen. In den Jahren 1949 und 1950 pflegten wir seine Gallen — und nur seines warmbrütenden Frühlingsstammes — in Mittelböhmen nur an Sinapis arvensis L. zu finden. In diesen Jahren fanden wir seine Gallen an den Kulturpflanzen nur auf den kalkarmen, „podzolierten" Böden Südböhmens und auf Permschen Rotböden in Nordböhmen; es handelte sich wie um den warmbrütenden Frühlingsstamm so auch um den kühlbrütenden Sommer- oder Herbststamm (nach Kaufmann 1923). Dagegen in Jahren 1952-1954 vermehrte sich der Herbststamm von Ceuth. pleurostigma sehr stark auch am Raps in Mittelböhmen. Im Frühling 1954 betrug der Anteil der durch den Kohlgallrüssler befallenen Winterrapspflanzen bis 90%. In der Umgebung der Gallen stellte sich hie und da Fäulnis ein und die Pflanzen gingen zugrunde. Im Jahre 1955 war die Menge der durch Ceuth. pleurostigma in Mittelböhmen befallenen Winterrapspflanzen geringer (10-20%). Die Bionomie dieses Schädlings ist wohl für unklar zu halten; sie ist in einzelnen Gebieten der Tschechoslowakischen Republik verschieden und wird weiter studiert.

Für den gefährlichsten Schädling der Raps- und besonders Kohlpflanzen kann man gegenwärtig den Grossen Kohltriebrüssler, Ceuthorrhynchus napi Gyll., halten. Noch vor dem zweiten Weltkriege wurde diese Rüsslerart in der Tschechoslowakischen Republik verhältnismässig selten angefunden. Zum erstenmale hat er spürbare Schäden den im Sommer gebauten Kohlrabipflanzen im Jahre 1944 verursacht. Im Jahre 1945 beschädigte er frühe und mittelfrühe Kohlrabis. Sein Angrif steigerte sich in den darauffolgenden Jahren und im Jahre 1948 wurde das Höchstmass der Schäden an Kohlgemüsepflanzen zum erstenmale erreicht. Blattný (1948) schätzte die durch diesen Rüssler im Jahre 1948 an Kohlgewächsen verursachten Schäden auf viele Millionen Kcs. Starý (1948) stellte in Mittelböhmen durchschnittliche Schäden bei Kohlrabi mit 80%, im Südmähren und in der Südslowakei mit 70% fest. Im Jahre 1949 waren durch Ceuth. napi nennenswerte Schäden weder bei Kohlgemüse noch bei Raps zu verzeichnen.

In Jahren 1950-1952 hat Ceuth. napi Kohlrabipflanzen in wärmeren Gebieten (Mittelböhmen, Umgebung von Koniggrätz, Südmähren) beschädigt; der Ernteausfall betrug 20-50%. Während des sehr warmen Frühjahrs des J. 1953 hat dieser Rüssler den Winterraps in so starkem Mass beschädigt, als es bisher in der Tschechoslowakischen Republik nicht bekannt wurde; die Schäden beim Kohlgemüse waren in diesem Jahr gering. Im Frühling 1954 war dagegen die durch diesen Rüssler verursachte Beschädigung der Rapsbestände, welche den ausserordentlich trockenen Herbst

und schneearmen Winter überlebt haben, sehr stark. Noch ernster war der durch diesen Schädling in demselben Jahre verursachte Schaden beim Kohlgemüse — 60 bis 80% der Kohlrabis sind durch ihn vernichtet oder entwertet worden; auch andere frühgebaute Kohlarten litten darunter stark. Im Jahre 1955 wurden durch Ceuth. napi auf dem Raps keine Schäden verursacht; in diesem Jahre entstand nur ganz vereinzelt 10-20 %-iger Ernteausfall bei den Kohlgemüsebeständen, welche in der dichten Nähe der vorjährigen Rapsfelder sich befanden; die Ursache des Schadens war der späte Flug des Rüsslers.

Insgesamt können wir im Schadauftreten von Ceuth. napi in der Tschechoslowakischen Republik drei Zeitabschnitte unterscheiden : den ersten vom Minimum vor dem Jahre 1944 angefangen über das Maximum im 1948 zum Minimum im 1949, den zweiten vom Minimum 1949 über das Maximum 1954 zum Minimum 1955, den dritten als den vom Minimum 1955 beginnenden Abschnitt.

Die Hauptfaktoren, welche die Populationsdynamik des Ceuth. napi beeinflussen

Die Ergebnisse des bisher durchgeführten Studiums zeigen, dass zu den entscheidensten Faktoren, welche den Massenwechsel des Grossen Kohltriebrüsslers beeinflussen, gehören : die Nährpflanze, das herrschende Wetter und die Parasiten aus der Gattung Thersilochus Holmgr.

1. Nährpflanze

Die Lebensweise von Ceuthorrhynchus napi ist der zweijährigen Entwicklung der Pflanzen aus der Gattung Brassica weit angepasst. Seine günstige Entwicklung ist an die Pflanzen verbunden, welche sich in der Periode ihrer Frühlingsaktivität in der aufsteigenden Phasis der Stengelentwicklung befinden. Wir haben beobachtet, dass Ceuth. napi die Bestände des Rübsens und der frühreifenden Sorten des Winterrapses viel weniger als die der späten Winterrapssorten befällt. Im Jahre 1953 haben wir diese empirisch gewonnenen Verhältnisse versuchsweise beweisen können (Kazda 1955-b).

Witterungsverhältnisse und agrotechnische Eingriffe, welche während der Frühlingsentwicklung des Rapses auf das Wachstum seiner vegetativen Organe positiv einwirken, beeinflussen in günstiger Richting die Pflanzen für den Befall durch Ceuth. napi. Dies betrifft in erster Reihe die ausgiebige Ernährung mit Stickstoff, ausreichenden Wasserinhalt im Boden, höhere Luftfeuchtigkeit, milde Lufttemperaturen. Im Gegenteil alle jene klimatischen

Einflüsse und agrotechnischen Eingriffe, welche das Zeitpunkt des Pflanzenblühens annähern, verringen die Eignung der Pflanzen für den Befall durch Ceuth. napi : dies gilt besonders für den Mangel an Stickstoffernährung und relativen Phosphorüberschuss, niedrige Luftfeuchtigkeit und intensiven Sonnenschein.

Die Eier und Junglarven von Ceuth. napi sind im Stande, sich günstig nur in Umweltsbedingungen mit hoher Luftfeuchtigkeit zu entwickeln (Günthart 1949). Aus dem Grunde sind für sie solche Reaktionen der Pflanze ungünstig, welche eine Erniedrigung der Feuchtigkeit ihrer Umwelt zur Folge haben. Bei den Kohlpflanzen gehören zu solchen besonders : das an Kohlrabi durch die Gallenbildung nach der Eiablage entstehende Aufspringen, und das Absterben der Vegetationsspitze an anderen Kohlarten. An Kohlpflanzen kommt es auf diese Weise zur hohen Sterblichkeit junger Entwicklungstadien von Ceuth. napi (Günthart 1949). Wir konnten feststellen, dass diese Sterblichkeit meistens höher als 90% ist (Kazda 1953-a). Wenn also ein massenhaftes Auftreten der Kohlpflanzen durch diesen Rüssler vorkommt, kann es sich danach durch Verringerung der Anzahl des Schädlings offenbaren. Dadurch ist es erklärlich, dass in den Jahren 1949 und 1955, welche den Jahrgängen mit stärkstem Befall des Kohlgemüses in der Tschechoslowakischen Republik folgten, das Kohlgemüse nur unbedeutend beschädigt war und die Gesammtzahl von Ceuth. napi—Imagines auch auf dem Raps viel niedriger war als in den vorangehenden Jahren.

Günthart (1949) hat auf die enge Abhängigkeit der Übervermehrung von Ceuth. napi mit starkem Rapsanbau hingewiesen. Die Massenzunahme von Ceuth. napi, in Korrelation mit der Vergrösserung der Raps-Anbaufläche in Tschechoslowakei bestätigt den Schluss Güntharts. Die Rapsanbaufläche stieg in der Tschechoslowakischen Republik von 1942 stürmisch an; im Frühling 1948 war sie sehr klein. In den darauffolgenden Jahren stieg sie stark bis zum Jahre 1954, in welchem sie sich stärker verringerte. Wenn wir die Dynamik der Rapsanbaufläche mit den dem Kohlgemüse durch diesen Rüssler verursachten Schäden vergleichen, können wir denselben Zusammenhang sehen, welchen Günthart in der Schweiz festgestellt hat : die zuerst beträchtlichen Schäden wurden in Jahren 1944 und 1945 sichtbar, also in drei Jahren nach der Vergrösserung der Rapsanbaufläche. Auch die Schwankung der Anbaufläche hat Einfluss auf die Gesamtzahl des Schädlings und auf die Intensität seiner Schadtätigkeit an Kohlpflanzen. In den Jahren 1948 und 1954, als die Rapsanbaufläche zurückging, stand dem Rüssler wenig Raps zur Verfügung; er befiel massenhaft das Kohlgemüse, wo es — wie höher erwähnt — zur grossen Sterblichkeit und dadurch zur Verringerung seiner Anzahl gekommen ist. Infolgedessen wurden durch diesen Schäd-

ling in den nachfolgenden Jahren geringere Schäden an Kohlpflanzen verursacht. Wir versuchten diese Parallelität zwischen Rapsanbaufläche einerseits und Ceuth. napi andererseits für die Prognostik des Massen- und Schadauftretens von Ceuth. napi auszunützen (Kazda 1955-a).

Die Übervermehrung des Grossen Kohltriebrüsslers in Tschechoslowakei lässt sich jedoch restlos durch Vergrösserung der Rapsanbaufläche nicht erklären, wenn auch diese Vergrösserung für primäre Ursache gehalten werden muss. In den Jahren 1880-1899 näherte sich die Rapsanbaufläche in Böhmen jener aus den Jahren des zweiten Weltkrieges. Trotzdem galt zu jener Zeit Ceuth. napi in unseren Ländern als selten (Lokay 1869, Redtenbacher 1874, Kliment 1899, Klapàlek 1903). Unserer Meinung nach hängt die Massenvermehrung von Ceuth. napi in Tschechoslowakei auch mit dem Anbau von Rapssorten zusammen, welche eine längere ontogenetische Entwicklung besitzen. Die in Tschechoslowakei früher gebauten Landsorten des Rapses waren durchwegs Frühsorten; sie liessen — trotz ihrer grossen Anbaufläche — wahrscheinlich die Übervermehrung von Ceuth. napi nicht zu. Bei dem Aufstieg der Anbaufläche zu Zeiten des zweiten Weltkrieges verdrängten mittelspäte und späte Sorten des Rapses die einheimischen, mehr frühreifenden Rapssorten. Im Einklang damit konnte die Anzahl von Ceuth. napi steigen. Der stärkere Befall der Spätsorten, über welchen wir oben gesprochen haben, scheint unsere Ansicht zu bestätigen. Die Kohlsamenträger, bei den Buhl (1952) einen starken Ceuth. napi-Befall im Gebiet von Hamburg festgestellt hat, werden in der Tschechoslowakischen Republik im ganzen auf verhältnismässig kleiner Anbaufläche und zerstreut angebaut; sie konnten sich daher bei der Massenvermehrung von Ceuth. napi kaum geltend machen.

In Böhmen kann auch ein stärkerer Anflug einer grösseren Anzahl von Ceuth. napi aus den Gebieten Deutschlands nicht ausgeschlossen werden, welche in der Richtung der vorherrschenden Westwinde liegen, und in den die Rapsanbaufläche und der Anbau von Mittelspät- und Spätsorten des Rapses zunächst anwuchs und in welchen auch die ersten Schäden an Raps und Kohlarten gemeldet wurden (Blunck 1941, Meuche 1942, Jancke 1943). Diese Möglichkeit halten wir jedoch nicht für entscheidende Ursache der Massenvermehrung von Ceuth. napi in Tschechoslowakei, sondern höchstens für einen Faktor, der das Anwachsen seiner Gradation beschleunigt hat.

2. Die Witterung

Die geographische Verbreitung von Ceuth. napi (West- und Mitteleuropa) und besonders das Gebiet der Kalamitätschäden (Deutschland, Tschechoslowakei, die Schweiz) deuten an, dass

Ceuth. napi auf Gebiete mit milderem und feuchterem Frühjahrs- und Sommerklima begrenzt ist. Sein schädliches Auftreten wurde aus den Gebieten mit aridem Klima bisher nicht gemeldet. Dies wird auch durch seine Abhängigkeit von den Rapsspätsorten bewiesen, welche für ihre günstige Entwicklung ausreichende Niederschläge besonders im Zeitabschnitt August bis Oktober und ausreichende Feuchtigkeit während ihrer Frühjahrsentwicklung erfordern. So ging der Raps in Tschechoslowakei schlecht auf und winterte in 1947/48 und 1953/54 aus, da die Herbstmonate sehr trocken waren. Wie erwähnt früher wurde, folgte eine Verringerung von Ceuth. napi-Anzahl nach.

Auch das Frühjahrswetter kann die Anzahl von Ceuth. napi stark beeinflussen. Dosse (1951) weist auf einen ungünstigen Dürre-Einfluss für die Gesamtindividuenzahl des Ceuth. napi hin, der sich im Laufe der Frühlingsentwicklung des Rüsslers und während des Einkriechens der Larven zur Verpuppung in den Boden geltend macht. Die Richtigkeit seines Schlusses konnten wir in Tschechoslowakei während eines sehr trockenen Frühjahrs 1953 bestätigen. Die oberen Teile der Rapsstengel trockneten ein und die darin sich befindenden Eier und Larven gingen ein. Im Jahre 1954 konnten wir auch einen Einfluss der Dürre auf eine Verringerung der Zahl von abgelegten Eiern des Ceuth. napi durch einen Versuch feststellen. Die Fruchtbarkeit der Ceuth. napi—Weibchen wurde in den Isolatoren auf einer Spätsorte (Slaper) des Winterrapses kontroliert. Auf den bewässerten Pflanzen haben die Weibchen in der ersten Versuchsreihe durchschnittlich 71 ± 3.6,6 Eier (s = 17,4), in der zweiten 76,6 ± 3.8,2 Eier (s = 18,3) abgelegt. Maximum betrug bei einem Weibchen 151, Minimum 30 Eier. Auf den unbewässerten Pflanzen der genannten Winterrapssorte haben die isolierten Weibchen in der ersten Versuchsreihe durchschnittlich 47,7 ± 3.3,04 Eier (s = 8,04), in der zweiten durchschnittlich 22,8 ± 3.7,07 (s = 14,1) Eier abgelegt. (Maximum betrug 74, Minimum 2 Eier.) Der Unterschied der Zahl von abgelegten Eiern auf den bewässerten und unbewässerten Rapspflanzen wurde wenigstens in der zweiten Versuchsreihe statistisch gesichert (p = 0,05) ... (Kazda 1955-b).

Wir haben versucht, durch die Analyse der klimatischen Daten in den Jahren 1944-55 jene klimatische Bedingungen festzustellen, welche für die Entwicklung des Ceuth. napi in der Tschechoslowakischen Republik als günstig oder aber als ,,kritisch'' zu betrachten wären. Für günstig für die Ceuth. napi-Entwicklung kann man halten : 60-100 Mm Niederschläge mit der Durchschnitstemperatur 6,5° C in März-April und wenigstens 100 Mm Niederschläge im Laufe der Monate August und September. Wenn die Niederschlägesumme in August und September niedri-

ger als 50 Mm, oder im März und April niedriger als 35 Mm liegt und gleichzeitig die Durchschnittstemperatur (in März-April) 7° C übersteigt, kann man unserer Ansicht nach einen Rückgang des Grossen Kohltriebrüsslers erwarten. Diese Werte sind bisher nur als sehr annähernd zu betrachten, man kann sie nicht pauschalmässig für andere Gebiete applizieren.

3. Der Parasit

Dosse (1951) weist auf die Bedeutung des Parasiten Thersilochus moderator L. für den Abbau der Gradation von Ceuth. napi in Hohenheim im Jahre 1949 hin. Wir konnten in Böhmen bisher nur den Parasiten Thersilochus gibbus Holm. feststellen, ähnlich wie Günthart (1949) und Buhl (1952). In 1949-54 haben wir in der Umgebung Prags den Prozentenanteil der den Gespinstkokon des Parasiten Thersilochus gibbus Holm. enthaltenden Erdkokons von Ceuth. napi festgestellt. Er nahm seit 1949 von Jahr zu Jahr zu (im Jahre 1949 — 26%, 1950 — 33%, 1952 — 51%, 1953 — 80%, 1954 — 95%; alles in Sommermonaten). Seine Bedeutung als beschränkenden Faktors des Ceuth. napi scheint klar zu sein. Gegen eine einseitige Verallgemeinerung seiner Bedeutung als vorherrschenden Faktors für die Liquidation der Massenvermehrung von Ceuth. napi zeugt jedoch das, dass der Parasit überwiegend nur ältere Larven befällt. Jüngere Entwicklungsphasen, Eier und frischgeschlüpfte Larven werden durch andere (klimatische) Einflüsse ausgeschaltet. Man kann erwarten, dass je höher die sogenannte unparasitäre Sterblichkeit, desto relativ höher der Anteil der Parasitation sein kann. Im Einklang damit steht auch unsere Beobachtung über den Prozentanteil der Parasitation in verschiedenen Jahren und in den verschieden trockenen Gebieten. So z.B. in 1953 waren in Mittelböhmen ca 80% Erdkokons von Ceuth. napi mit dem Parasiten besetzt, im wärmeren und trockeneren Südmähren (Lednice) im desselben Jahre fast 100%. Das will natürlich nicht sagen, dass wir den Einfluss des Parasiten Ceuth. napi auf den Verlauf seines Massenwechsels unterschätzen sollten.

Diskussion und Zusammenfassung

Aus den bisherigen Kenntnissen kann man den Schluss ziehen, dass der Massenwechsel des Ceuth. napi besonders durch die Anbaufläche der späten und halbspäten Winterrapssorten, durch die Einwirkung der klimatischen Bedingungen einer Gegend (die Jahresschwankungen einbegriffen) und durch Parasiten aus der Gattung Thersilochus beeinflust werde. Bei der Verschieden-

heit der oekologischen Situation, betreffend die einzelnen klimatisch unterschiedlichen Gebiete und einzelne Jahrgänge, können auch Verschiedenheiten im Massenwechsel des Rüsslers in einzelnen Gebieten seines Lebensareals erwartet werden. Danach kann auch die Bedeutung von einzelnen Faktoren der Umweltbedingungen verschiedenartig liegen. In den Gebieten mit einem vorherrschenden Ozeanklima — welches im Verlauf der Jahre mehr ausgeglichen ist — kann man bei annähernd gleicher Rapsanbaufläche erwarten, dass die Rolle des regulierenden Faktors eher der Parasit spielen wird. Der Schädling sollte sich dortselbst in gewissem ,,dynamischem Gleichgewicht'' befinden; seine Anzahl werde nicht allzuviel schwanken. Der Schädling konnte dort zwar häufig sein, werde aber kaum zu einem Kalamitätsschädling. Dagegen in den Gegenden mit Kontinentalklima wird dem Klima die Rolle des Begrenzungsfaktors gehören. Eine Vermehrung des Schädlings in solchen Gegenden ist kaum zu erwarten. In Gebieten, welche sich unter wechselnder Einwirkung des ozeanischen und kontinentalen Klimas befinden, ändert sich das Wetter stark in einzelnen Jahrgängen. In einigen Jahren sind klimatische Verhältnisse mehr oder weniger für den Raps und für Ceuth. napi fast optimal, in anderen weichen sie davon ab, um auch unter die für Ceuth. napi ,,kritische Grenze'' zu sinken. Und eben in diesen Gebieten — ganz Mitteleuropa gehört dazu — können bei grösserem Anbau von Spätsorten des Winterrapses starke Schwankungen in der Populationsdynamik von Ceuth. napi (Gradationen) entstehen. Es scheint, dass je trockener das Wetter und je grösser die Schwankungen des Klimas in einzelnen Jahrgängen im bestimmten Gebiet sind, desto grössere Bedeutung könnte gelegt werden auf die klimatischen Faktore, welche die Population des Rüsslers beeinflussen.

*
* *

Man kann — nach vorherigen Daten — erwarten, dass Ceuth. napi grösste Schäden dem Kohlgemüse damals verursachen wird, wenn die Rapsfläche sich infolge trockenen Herbst und Auswinterung bedeutend im Vergleich mit der vorjährigen Fläche verringern wird. Die Imagines Ceuth. napi pflegen, nachdem sie ihre Winterquartiere verlassen haben, keinen Raps mehr (oder nur unzureichend) zu finden und fliegen massenhaft auf das Kohlgemüse über. Auf diese Ursache der Kalamitäten bei Kohlpflanzen hat bei uns Starý (1948) aufmerksam gemacht. Auch Blattný (1948) hielt starke Schäden bei Kohlpflanzenkulturen im Jahre 1948 für eine Folge des trockenen Sommers 1947. Ergebnisse weiterer Studien über Ceuth. napi in Tschechoslowakei bestätigten diese Annahmen.

Der Anflug des Ceuth. napi auf Kohlgemüse und die Beschädigung derselben kann auch in anderen Jahrgängen stattfinden, u. zwar :

1) wenn der Zeitabschnitt des Blütenanfanges des Winterrapses in grösseren Gebieten dem Aussetzen der Kohlpflanzen aufs Feld gleich ist (Ceuth. napi verlässt nach unseren Beobachtungen den blühenden Raps),

2) wenn die Imagines des Ceuth. napi infolge kalten Frühjahrs die Winterverstecke erst zu dem Zeittermin verlassen, als in den Saatbeeten oder auf den Feldern schon stärker entwickelte Pflanzen vorhanden sind,

3) wenn das Kohlgemüse in dichter Nähe des Winterrapses sich befindet.

* * *

Für den Schutz der Kulturpflanzen halten wir für wichtig unsere Feststellung (1953-a), dass eine dauernde Erniedrigung der Ceuth. napi-Anzahl bloss durch den Schutz der Kohlpflanzen nicht zu erzielen ist. Die Hauptfront der Bekämpfung muss auf den Raps übertragen werden; der direkte Schutz der Kohlpflanzenkulturen darf dabei freilich nicht vernachlässigt werden. Am Raps ist die Bekämpfung des Ceuth. napi in der Regel leichter, am Anfang der Frühjahrsaktivität des Rüsslers ist dortselbst grosser Anteil seiner Individuen konzentriert. Man könnte sogar sagen, dass die Bekämpfung von Ceuth. napi am Raps den preventieven Schutz des Kohlgemüses darstellt. Gegenwärtig scheint es, dass zur Liquidation der Kalamitäten durch Ceuth. napi einmaliger Einschritt mit chemischen Mitteln am vorteilhaftesten durchführbar ist (HCH; DDT hat sich auch in Böhmen nicht als vollwirksam bewährt; siehe auch Günthart 1949, Dosse 1951). Es müssten selbstverständlich zeitig im Frühjahr nach dem Zuflug von Ceuth. napi alle Rapskulturen im grösseren geschlossenen Gebiete mit HCH zweimal behandelt werden.

LITERATUR

1. BLATTNY, C. — 1948. Krytonosec ctyrzuby, puvodce kalamity na kostalovinach a boj proti nemu. — Pritel zahrad 14 : 120-121. — Praha.
2. BLUNCK, H. — 1941. Krankheiten und Schädlinge von Raps und Rübsen. *Forschungsdienst, Organ der Dtsch. Landwirtschaftswissenschaft*, 1941, Sonderheft 14 : 193-232. Berlin.
3. BUHL, C. — 1952. Der Grosse Kohltriebrüssler, Ceuthorrhynchus napi Gyll., ein bisher im Glückstädter Gemüseanbaugebiet unbekannter Schädling. *Ztschr. Pflanzenkr.* 59 : 326-334. Stuttgart.

4. DOSSE, G. — 1951. Der Grosse Kohltriebrüssler Ceuthorrhynchus napi Gyll. *Ztschr. ang. Ent.* 32 : 489-566. Stuttgart.
5. GÜNTHART, E. — 1949. Beiträge zur Lebensweise und Bekämpfung von Ceuthorrhynchus quadridens Panz. und Ceuthorrhynchus napi Gyll. mit Beobachtungen an weiteren Kohl- und Rapsschädlingen. *Mitt. Schweitz. Entom. Ges.* 22 : 443-592. Zürich.
6. JANCKE, O. — 1943. Der grosse Rapsstengelrüssler Ceuth. napi Gyll. als Kohlschädling. *Nachrbl. Dtsch. Pflanzenschutzd.* 23 : 7-8. Berlin.
7. KAUFMANN, O. — 1923. Beobachtungen und Versuche zur Frage der Überwinterung und Parasitierung von Ölfruchtschädlingen. *Arb. Biol. Reichsanst.* 12 : 109-169. Berlin.
8. KAZDA, V. — 1953-a. Vztah skodlivosti a premnozeni krytonosce repkového (Ceuthorrhynchus napi Gyll.) k zivnym rostlinam. (Über die Beziehungen von Schad- und Massenauftreten des Grossen Kohltriebrüsslers, Ceuth. napi Gyll., zu seinen Wirtspflanzen). *Zool. a ent. listy* 2 : 181-192. Brno.
9. KAZDA, V. — 1953-b. Bionomie a hospodarsky vyznam krytonosce ctyrzubého, Ceuthorrhynchus quadridens Panz., v strednich Cechach. (Über die wirtschaftliche Bedeutung des Gefleckten Kohltriebrüsslers Ceuthorrhynchus quadridens Panz. und seine Lebensweise in Mittelböhmen). *Zool. a entom. listy* 2 : 231-240. Brno.
10. KAZDA, V. — 1955-a. Zaklady prognostiky krytonosce repkového, Ceuthorrhynchus napi Gyll. (Die Grundlagen der Prognostik des Grossen Kohltriebrüsslers, Ceuthorrhynchus napi Gyll.). *Zool. a entom. listy* 4 : 145-158. Brno.
11. KAZDA, V. — 1955-b. Prispevek k ekologii krytonosce repkovéhó, Ceuthorrhynchus napi Gyll. (Beitrag zur Ökologie des Grossen Kohltriebrüsslers, Ceuthorrhynchus napi Gyll.). Rozpravy Ceskoslovenské akademie ved. Rada MPV. 65 /8/ : 37 pp. Praha.
12. KLAPALEK, F. — 1903. Atlas brouku stredoevropskych. Praha.
13. KLIMENT, J. — 1899. Cesti brouci. Nemecky Brod.
14. LOKAY, E. — 1869. Verzeichnis der Käfer Böhmens. Praha.
15. MEUCHE, A. — 1942. Zur Oekologie und Bekämpfung des grossen Rapsstengelrüsslers (Ceuth. napi Gyll.). *Ztschr. Pflanzenkr.* 53 : 62-73. Stuttgart.
16. REDTENBACHER, L. — 1874. Fauna Austriaca. Die Käfer. Wien.
17. STARY, B. — 1948. Skody krytonoscu na kostalovinach. *Zahradnické listy* 42 : 137-138. Praha.

H. Blunck, Bonn

V : Die Entwicklung des Massenwechsels von *Ceutorrhynchus napi* ist in Deutschland ganz parallel wie in der Tchechoslovakei verlaufen. Auch wir sind der Meinung, dass das Aufhemmen des Befalls mit dem Klima zusammenhängt. Wir haben dahin aber noch keine exakten Belege. Um so wertvoller sind die in Prag jetzt gesammelten exakten Daten. Die Grösse der Rapsanbaufläche kann nicht allein die Ursache der Massenvermehrung sein, den derselben starke Zunahme in I. Weltkrieg hat keine Zunahme des Befalls gebracht. Der enorme Befall bei Kohl dürfte aber mit der Abnahme der Rapsanbaufläche nach dem 2. Krieg zusammenhängen. Die Parasiten des Käfers scheinen in Deutschalnd dieselben wie in Böhmen zu sein (in 1. Linie *Thersilochus gibbus*), 100%igen Befall habe ich aber noch nicht beobachtet. D.D.T. wirkt auf *C. napi* nicht durchschlagend, mit Hexamitteln hatten aber auch wir gute Ergebnisse.

A : Ich stimme auch nach Zwiesprache mit Dr Kazda den Ausführungen H. Prof. Dr. Bluncks vollkommen bei.

G. W. Ankersmit. Wageningen

V : Komt *Trichomalus fasciatus* ook als parasiet van *C. napi* voor?

A : Neen.

OVER DE BESTRIJDING VAN DE KOOLZAADSNUITKEVER

door

G. W. Ankersmit

(Laboratorium voor Entomologie van de Landbouwhogeschool te Wageningen)*

Inleiding

De koolzaadsnuitkever, *Ceuthorrhynchus assimilis* Payk. legt in het voorjaar haar eieren in de hauwen van verscheidene *Brassica* spp. De larven voeden zich ten koste van de zaadjes. Uit de levenswijze, welke in het bijzonder door de onderzoekingen van Heymons (1922) en Speyer (1923) bekend is geworden, blijkt, dat het beste ogenblik voor een chemische bestrijding in het voorjaar tijdens de invasie van het koolzaadveld, is gelegen. De resultaten van deze bestrijding, waarvoor men na de oorlog veelal een HCH of parathion bevattend middel gebruikte, waren gewoonlijk pover. Kort na de behandeling, die op een ogenblik, dat de kevers talrijk waren, werd uitgevoerd, daalde de keverpopulatie steeds sterk, om enkele dagen daarna weer toe te nemen, zodat een tweede behandeling noodzakelijk was. Evenwel gaven ook 2 behandelingen met een HCH of parathion bevattend middel geen volkomen afdoende resultaten.

Ten einde hierin verbetering aan te brengen werd een onderzoek naar de fenologie van de koolzaadsnuitkever ingesteld in de jaren 1951-1954. Op grond hiervan werden enige bestrijdingsproeven uitgevoerd.

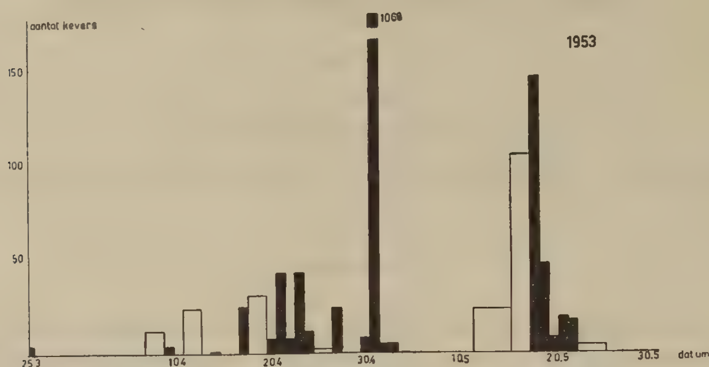
Onderzoek van de fenologie

De belangrijkste vragen, die voor de bepaling van het tijdstip van bestrijding beantwoord moeten worden, zijn :

1. Wanneer verlaten de kevers de winterkwartieren.
2. Wanneer verschijnen zij in het veld.
3. Wanneer gaan zij eieren leggen.

(*) Het onderzoek werd uitgevoerd op het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek te Wageningen.

1. Door in het voorjaar bij de winterkwartieren een gele vangbak te plaatsen kon het te voorschijn komen van de kevers uitstekend gevolgd worden. De resultaten van de vangbak vangsten bij winterkwartieren zijn in grafiek 1 weergegeven. In 1953 verschenen



Grafiek 1 — *Graph* 1

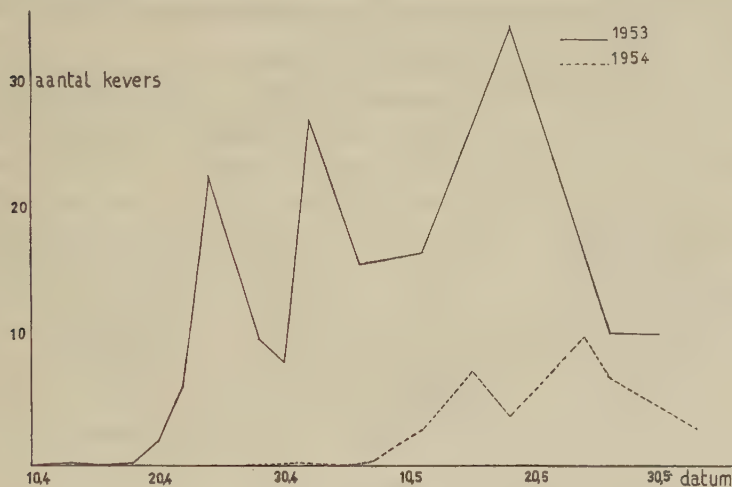
Vangsten met een gele vangbak bij een winterkwartier van de snuitkever bij Wageningen in 1953 en 1954. De vangsten van één dag zijn zwart, die van 2 of meer dagen wit aangegeven; in het laatste geval werd dan het totaal aantal gevangen kevers gedeeld door het aantal dagen.

Results of trapping with a yellow tray trap near a winterquarter of the weevils in the neighbourhood of Wageningen in 1953 and 1954. The catches of one day are in black, those of two or more days are white; in the latter case the total number of weevils was devided by the number of days.

de eerste kevers op 25 maart en in 1954 op 10 april. De vluchten hielden aan resp. tot 25 en 27 mei. We moeten dus zeker rekening houden met een voorjaarsvlucht, die bijna 2 maanden duurt. Voorts bleek overeenkomstig de gegevens van Risbec (1952) dat het percentage ♂♂ onder de in april verschenen kevers hoog was,

nl. 70 tot 80% terwijl eind mei juist de ♀♀ naar verhouding talrijk waren (30% ♂♂). De laatste vluchten zijn dus het gevaarlijkst voor het koolzaad.

2. Het verschijnen in het veld kan het best gevolgd worden door met een net populatietellingen te doen. Hiertoe wordt op verschillende plaatsen in het veld met het net een bepaald aantal keren door het gewas geslagen, waarna het aantal gevangen kevers wordt geteld. Het resultaat van dergelijke populatietellingen in 1953 en 1954 is in grafiek 2 weergegeven.



Grafiek 2 — *Graph 2*

Verloop van de keverpopulatie, uitgedrukt in het gemiddeld aantal kevers per drie netslagen in koolzaadvelden in 1953 en 1954.

Mean catch of weevils per three netsweeps in colza fields in 1953 and 1954.

De afstand van de winterkwartieren naar de koolzaadvelden zal vrijwel steeds vliegend moeten worden afgelegd. De weersomstandigheden, waaronder deze vluchten plaatsvinden, werden in het bijzonder met behulp van vangbakwaarnemingen onderzocht. Ook werden enkele laboratoriumproeven hierover gedaan. Het resultaat was dat, zoals ook reeds uit vroegere onderzoekingen o.a. van Speyer (1923) en Gunthart (1949) bekend was, vluchten pas gaan optreden bij temperaturen boven 15° C en windsterkten van 2 Beaufort of minder.

3. De eiafzetting vindt eerst plaats na een rijpingsvraat, welke ongeveer een week duurt wanneer de kevers zich de gehele tijd kunnen voeden. Bij koud winderig weer wordt deze periode verlengd. Uit proeven bleek, dat eieren alleen bij temperaturen boven 16° C worden afgezet.

Op grond van deze gegevens, gecombineerd met veldwaarnemingen en hauwonderzoek kunnen we nu de volgende tabel gaan samenstellen, waarbij mede gebruik is gemaakt van het werk dat door twee studenten in de biologie en een agrarisch student onder leiding van Dr H. J. de Fluiter van het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek in 1951 werd uitgevoerd.

TABEL 1 — TABLE 1

Gegevens betreffende het verschijnen en eileggen in 4 jaar onderzoek

Observations about appearance and egg deposition in 4 years of research

Plaats *Location)*		Kevers talrijk *Weevils numerous*	Theoretis;he legdatum eerste ei *Theoretical date first egg*	Datum vondst eerste ei *Date finding first egg*	Meeste eieren *Most eggs*	Midden blo *Middle of flowering*
Numanspolder	1951	26 april	3 mei	9 mei	begin juni*	20 mei
N.O.P.	1951	4 mei	11 mei	16 mei	begin juni*	20 mei
Wageningen	1951	26 april	3 mei	17 mei	begin juni*	15 mei
Wolfheze	1951	4 mei	11 mei	17 mei	begin juni*	20 mei
Wolfheze	1952	half april	eind april	±6 mei	10-20 mei*	4 mei
Randwijk	1952	?	?	8 mei**	20-30 mei***	8 mei
Wolfheze	1953	24 april	1 mei	2 mei	20-30 mei	8 mei
Wageningen	1954	11 mei	18 mei	21 mei	1-20 juni	18 mei

* Niet met zekerheid bekend.
** Hiervan zijn geen eerdere waarnemingen gedaan.
*** Begin mei werd een bespuiting met parathion uitgevoerd, waardoor de op dat ogenblik aanwezige kevers voor een groot deel werden gedood en de maximale eiafzetting werd vertraagd.

Op grond van de gegevens in tabel 1 kunnen we nu vaststellen, wat het geschiktste ogenblik voor een bespuiting zou zijn geweest. Wanneer men terstond, nadat de kevers talrijk zijn geworden een behandeling uitvoert, dan zal men zoals uit de vangbak resultaten blijkt, het laatste deel van de voorjaarsvlucht niet bestrijden, daar de nawerking van de middelen, op een in mei snelgroeiend gewas als koolzaad, kort is. Bij dieldrin kan deze op ongeveer twee weken geschat worden. Daar men op zijn vroegst een week na het talrijk worden van de kevers eiafzetting kan verwachten, is het mogelijk de behandeling afhankelijk van de weersgesteldheid (temperatuur $>$ 15° C) tot 7 of meer dagen na de kevervlucht uit te stellen. Hierdoor wordt bereikt, dat ook de laatste kevervlucht bestreden wordt, zodat slechts één behandeling nodig is.

Deze overwegingen moeten nu getoetst worden aan de hand van enige veldproeven welke in 1954 werden uitgevoerd.

Bestrijdingsproeven

Uit proefnemingen, die in het voorafgaande jaar waren genomen, was reeds bekend, dat dieldrin bevattende middelen de beste perspectieven voor de bestrijding bieden. Om deze reden werd in de tijdstippen proeven alleen dit middel nader onderzocht.

Een proef werd in de Betuwe opgezet op de bedrijven van de heren Roorda te Elden en Mol te Ophemert. De proefopzet en de resultaten zijn in tabel 2 aangegeven. Er werd naar gestreefd 600 g dieldrin per ha te geven. Op ieder veld werd de proef in een herhaling uitgevoerd. In de buurt gelegen onbehandelde velden hadden een aantasting in de orde van grootte van object C.

TABEL 2 — TABLE 2

Resultaat van de in 1954 in de Betuwe uitgevoerde tijdstippenproeven
Results of timing experiments in the Betuwe in 1954

Object	Tijdstip van de behandeling *Date of treatment*	Stadium gewas *Stage crop*	Percentage aangetaste hauwen in het midden van het veld *Percentage infested pods in the centre of the field*
A	20 mei, gehele vak	midden bloei	0,6
B	1 mei, gehele vak	voor de bloei	3,1
	28 mei, alleen een randstrook	na de bleoi	
C	14 mei, alleen een randstrook	begin bloei	6,2
	28 mei, alleen een randstrook	na de bloei	
D	14 mei, gehele vak	begin bloei	2,1
	28 mei, alleen een randstrook	na de bloei	
E	14 mei, gehele vak	begin bloei	0,2
	28 mei, gehele vak	na de bloei	

De kevers waren op 10 mei talrijk geworden. Een volgende invasie vond plaats van 24 tot 29 mei.

In deze proef werden tijdstip en methode van behandeling onderzocht. Door de zwakke aantasting zijn maar beperkte conclusies mogelijk. Duidelijk is, dat een behandeling van alleen een randstrook (breedte 8,4 m) (C) de keveraantasting in het midden van het veld niet kan voorkomen. Een vroegere behandeling als bij B heeft minder effect dan een latere behandeling. De proef geeft de indruk dat de laatste behandelingen nl, van 20 en 28 mei het meest tot de goede resultaten van de objecten A en E hebben bijgedragen.

In de Noord-Oostpolder werd tenslotte een veldproef uitgevoerd in samenwerking met Dr Fransen van het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek en Ir Veenenbos van de Plantenziektenkundige Dienst.

Vergeleken werden een vroege en een late behandeling, terwijl bovendien de mogelijkheid om de Dieldrin concentratie te verlagen nader werd onderzocht. Als controle diende een met HCH behandeld vak. Het aantal parallellen bedroeg 2. Ieder vak was 75 m breed en ongeveer 275 m lang. De behandelingen werden uitgevoerd met een vliegtuig. De hoeveelheid per ha verspoten vloeistof bedroeg ± 20 l, de nozzle D 8-45, de druk 50 psi en de vliegsnelheid 70 mph.

In tabel 3 zijn de verdere proefgegevens en de resultaten vermeld, die uit het onderzoek van een groot op 28 juni genomen hauwmonster werden verkregen.

TABEL 3 — TABLE 3

Resultaten van een bestrijdingsproef met een vliegtuig in de N.O.P. in 1954
Results of control experiment by aeroplane in the North-Eastpolder in 1954

Werkzaam bestanddeel *Active material*	Dosering per ha *Dosage per ha*	Tijdstip van de behandeling *Date of treatment*	Aantal larven per 100 hauwen *Number of larvae per 100 pods*
Dieldrin	600 g	na midden bloei (24 mei) (*after the middle of flowering*)	1,5
Dieldrin	600 g	voor de bloei (10 mei) (*prior to flowering*)	7,5
Dieldrin	380 g	na midden bloei (24 mei (*after the middle of flowering*)	6,0
HCH	300 g	na midden bloei (24 mei) (*after the middle of flowering*)	14,0

Uit deze proef blijkt dus duidelijk, dat de koolzaadsnuitkever door een laat uitgevoerde behandeling met dieldrin uitstekend is te bestrijden. De vroege behandeling heeft een minder goed effect dat aan het geleidelijk uitgewerkt raken van het middel moet worden toegeschreven.

Conclusie

Uit deze en andere proeven wordt de aanwijzing verkregen, dat de bestrijding van de koolzaadsnuitkever niet te vroeg moet worden uitgevoerd en dat het beste tijdstip voor de bestrijding valt op de eerste dag met temperaturen boven 15° C een week, nadat de kevers talrijk zijn geworden.

SUMMARY

On the control of the cablage seedpod weevil

The cabbage seedpod weevil *Ceuthorrhynchus assimilis*, which causes important damage to colza in the Netherlands was the subject of investigations from 1951 to 1954. Flights, registered by means of yellow tray traps, occurred from the end of March to the end of May. Temperatures of at least 15° C and low wind speeds of 2° Beaufort or less are necessary for flight. Males emerge earlier than females. Eggs are deposited, after a maturation period of about one week, at temperatures above 16° C. Experiments (table 2 and 3) proved that good control was obtained by one treatment shortly after the middle of the flowering period or about 10 to 14 days after the first important invasion into the colza field. One treatment at this moment was almost as effective as two treatments. (one at the beginning of flowering and one 14 days later) Treatments of the border areas were not effective.

LITERATUUR

GÜNTHART, E. — Beiträge zur Lebensweise und Bekämpfung von Ceuthorrhynchus quadridens Panz. und C. napi Gyll. mit Beobachtungen an weiteren Kohl- und Rapschädlingen. *Mitt. Schweiz. Ent. Ges.* 1949, 22, 441-591.

HEYMONS, R. — Mitteilungen über den Rapsrüssler Ceuthorrhynchus assimilis Payk. und seinen Parasiten Trichomalus fasciatus Thoms. *Z. angew. Ent.* 1922, **8**, 93-111.

RISBEC, J. — Contribution à l'étude de Ceuthorrhynchus assimilis Payk. Charançon de siliques du colza. *Rev. de path. Vég.* 1952, **31**, 137-174.

SPEYER, W. — Kohlschotenrüssler (Ceuthorrhynchus assimilis Payk.), Kohlschotenmücke (Dasyneura brassicae Winn.) und ihre Parasiten. *Arb. aus der biol. Reichsanst. f. Land- u. Forstwirtsch.* 1923, **12**.

H. Blunck, Bonn

V : Hat Befall durch *Dasyneura brassicae* eine vorherige Verleztung der Schoten zur Voraussetzung (e.B. durch *Ceuthorrhynchus assimilis*).

A : Ja. Nie würden eingekäfigte Pflanzen belegt wenn ich die Schoten nicht vorher mit einer Nadel verletzt hatte.
H. Blunck : Damit ist Börners und Speyers Beobachtung aus 1919 voll bestätigt.

W. E. Van den Bruel, Gembloux

V : Quels furent les conséquences de l'application de la dieldrin pour les abeilles.

A : Dieldrin is zeer giftig voor de bijen. Bijenhouders moeten dan ook gewaarschuwd worden hun bijen op de dag van behandeling binnen te houden. Op deze wijze kon in onze proeven voorkomen worden, dat de sterfte onder de bijen belangrijk werd.

ESSAIS DE LUTTE CONTRE LA MOUCHE DE LA CERISE (*RHAGOLETIS CERASI* L.)

par

J. Bernard

Station d'Entomologie, Gembloux

La Mouche de la cerise, *Rhagoletis cerasi* L. est un petit diptère appartenant à la famille des **Trypetidae**.

Sa biologie est bien connue. L'espèce hiverne sous forme de pupe enfouie dans le sol à quelques centimètres de la surface. Au printemps, vers la fin mai ou le début juin, la nymphe donne naissance à l'imago. La ponte débute après quelques jours d'alimentation des femelles aux dépens des cerises mûrissantes. L'œuf est inséré superficiellement dans la pulpe de la cerise. Après quelques jours d'incubation, nait une petite larve qui émerge de sa partie distale et qui s'enfonce immédiatement dans la chair du fruit. Cette première migration l'amène à proximité du noyau où elle va muer.

Elle passe par deux autres stades postembryonnaires au cours desquels elle se nourrit au détriment des tissus charnus proches du noyau.

A la fin de la période de nutrition, une nouvelle migration l'amène de nouveau à la périphérie du fruit, dont elle perce l'épiderme. Elle se laisse alors tomber sur le sol, s'y enfonce et se nymphose immédiatement. C'est dans cet état qu'elle attendra le printemps suivant.

La Mouche de la cerise, qui commet des dégâts en Europe centrale et méridionale, a fait l'objet de travaux importants dès avant la guerre.

En 1938, Thiem (6) avait déjà posé le principe de trois possibilités de lutte :

a) contre les pupes hivernantes ou les adultes émergents;

b) contre les larves au moment de leur pénétration dans le sol;

c) contre les adultes avant la ponte.

Par contre, il considérait comme sans espoir toute tentative de détruire les œufs et les jeunes larves.

Malgré la multiplicité et la valeur des travaux de l'époque, il semble que le problème n'ait pas été résolu avant l'apparition du D.D.T.

En 1942, Wiesmann (8) mettait au point une méthode de lutte vraiment efficace. Son principe consistait à pulvériser les arbres à deux reprises avec une suspension de D.D.T., au moment du vol des adultes. Ce procédé de lutte dont nous avons pu vérifier la valeur plusieurs fois, présente néanmoins quelques inconvénients majeurs (*).

Pour être efficaces, les traitements doivent être appliqués au moment opportun, de façon à tuer les femelles avant le début de la ponte. Or, la date de début du vol varie non seulement suivant les années mais encore suivant le microbiotope. Ceci implique la nécessité de pratiquer l'avertissement et de multiplier les postes d'observation.

D'autre part, le second traitement ayant lieu peu de temps avant la cueillette, il reste souvent un dépôt assez important de matière active sur les fruits marchands.

Enfin, en Belgique, les cerisiers attaqués sont souvent de grande taille, isolés et situés dans des endroits inaccessibles aux pulvérisateurs à grande puissance.

Devant ces difficultés, nous nous sommes penchés vers d'autres principes de lutte : le traitement du sol et la destruction des œufs ou des jeunes larves dès leur éclosion.

A. — Traitement du sol avant l'apparition des adultes.

Le problème posé était le suivant :

Un traitement du sol peu de temps avant l'émergence est-il susceptible, soit de détruire les pupes, soit de tuer les imagos pendant leur trajet souterrain ou leur course sur le sol avant l'envol ?

En 1951, nous avons fait un premier essai destiné à vérifier cette hypothèse. L'expérience a été réalisée en laboratoire et en verger.

En laboratoire le protocole expérimental a été le suivant :

a) Pupes trempées pendant une demi-heure dans la solution insecticide et mises ensuite en élevage.

b) Terre renfermant des pupes à une profondeur définie, placée dans des pots et traitée par arrosage.

Dans ce dernier cas, trois modalités opératoires ont été retenues :

(*) Deux applications de D.D.T. peuvent réduire le taux des fruits atteints à 4 ou 0,5% suivant les cas.

1. Les pupes qui étaient situées à 3 cm de profondeur ont été retirées et mises en élevage après un séjour de 15 jours dans le sol traité.

2. Lors du traitement les pupes étaient enfouies superficiellement. Lors de l'émergence les adultes n'ont pas eu à traverser une couche de sol traité, mais le substratum sur lequel ils ont effectué leurs premiers pas contenait un insecticide.

3. Les pupes, lors du traitement, étaient placées à 3 cm de profondeur. Quelques jours après le traitement, le sol arrosé a été recouvert d'une fine couche de terre non traitée. Ainsi, les adultes ont dû traverser une couche de terre traitée, mais se sont trouvés en surface sur un substrat non nocif.

Dans les 2ième et 3ième cas, la durée de contact de la pupe et du sol traité a été de 34 jours au moins.

Les solutions insecticides ont été utilisées à raison de 5 l. au m². L'essai a été fait sur deux types de sols : une terre de jardin et une terre de prairie.

Les produits qui ont été utilisés figurent au tableau I.

Les résultats sont repris dans les tableaux II et III.

TABLEAU I

Insecticides utilisés dans les essais de traitement du sol avant l'éclosion des adultes.

Produit	Forme physique	Teneur en M.A.	Doses d'utilisation*
Chlordane . .	A. Suspension	50 %	0,12%
	B. Emulsion	48 %	0,12%
Toxaphène .	C. Suspension	40 %	0,15%
	D. Emulsion	25 %	0,24%
H.C.H.	E. Suspension	12,5%	0,4 %
Lindane	F. Emulsion	15 %	0,05%
Aldrin	N. Suspension	25 %	0,2 %
	G. Emulsion	25 %	0,2 %
Dieldrin . . .	O. Suspension	25 %	0,4 %
	H. Emulsion	25 %	0,4 %
D.D.T.	L. Suspension	50 %	0,2 %
	M. Emulsion	25 %	0,4 %
H.C.H. + Pyrethrines	I. Emulsion	4 % 1 %	0,6 %

* Les quantités de liquide appliquées correspondent à 5 l au m². La dose d'utilisation est exprimée en % du produit commercial.

Le tableau II donne le pourcentage de mortalité parmi les pupes ayant subi une demi-heure de trempage; le tableau III, les

TABLEAU II

Pourcentage de mortalité parmi les pupes ayant subi une demi-heure de trempage dans les solutions insecticides.

Produit	Forme physique	% Mortalité
Chlordane	Suspension	22,5
	Emulsion	22,5
Toxaphène	Suspension	22,5
	Emulsion	44,5
H.C.H.	Suspension	10,0
Lindane	Emulsion	0
Aldrin	Suspension	0
	Emulsion	0
Dieldrin	Suspension	40,0
	Emulsion	11,0
D.D.T.	Suspension	0
	Emulsion	20,0
H.C.H. + Pyréthrines	Emulsion	22,5
Témoin		20,0

mortalités parmi les pupes ayant subi les traitements dans le sol, dans les trois types d'essais repris dans le protocole.

Le simple trempage des pupes pendant une demi-heure dans les solutions montre que si certains produits paraissent fournir des résultats encourageants, aucun d'entre eux, *dans les conditions de l'essai*, ne semble à même d'entraîner des mortalités suffisantes.

Le tableau III montre que le simple contact des pupes pendant 15 joursavec un sol traité (P1-J1) n'entraîne aucune mortalité valablement différente de celle du témoin.

Dans le traitement n° 2 (P2-J2), lorsque les pupes sont maintenues jusqu'à émergence près de la surface dans un sol traité, on constate que certains produits provoquent des mortalités

intéressantes surtout en terre de jardin. Dans ce dernier cas, les émulsions d'aldrin et de dieldrin ont provoqué une mortalité totale.

TABLEAU III

Pourcentages de mortalité parmi les pupes maintenues en sol traité.

Produit	Forme physique	% Mortalité			% Mortalité			% Mortalité		
		P 1	J 1	Moyenne	P 2	J 2	Moyenne	P 3	J 3	Moyenne
ordane	Suspension	10	10	10	10	66,6	36,8	11,1	44,4	27,7
	Emulsion	30	12,5	22,2	10	50	30,0	11,1	20,0	15,7
aphène ...	Suspension	10	10	10	10	66,6	36,8	33,3	11,1	22,2
	Emulsion	0	20	10	10	40	25	0	50,0	26,3
.H.	Suspension	11,1	0	5,3	50	66,6	57,9	30	0	15,0
dane	Emulsion	0	22,2	10,5	40	40	40	62,5	70	66,5
rin	Suspension	0	30	15,0	22,2	80	52,6	33,3	20	26,3
	Emulsion	10	20	15,0	62,5	100	81,2	57,1	11,1	31,2
ldrin	Suspension	20	20	20	44,4	70	57,9	30	0	15,0
	Emulsion	22,2	10	15,8	33,3	100	68,4	0	11,1	5,3
).T.	Suspension	0	20	10	20	10	15	10,0	0	5,0
	Emulsion	10	20	15	10	0	5	0	3,33	16,6
.H + Pyréthrines	Emulsion	20	0	10	10	40	25	30	0	15,7
noin		10	10	10	20	10	15	20	30	25

Enfin, si les pupes (P3-J3) sont maintenues profondément en sol traité, les mortalités n'atteignent en aucun cas un taux intéressant.

En ce qui concerne les mortalités d'adultes à l'éclosion, dans plusieurs cas, le faible nombre de pupes survivantes ne permet pas de tirer la moindre conclusion. Un seul produit semble avoir donné un résultat valable, le chlordane. En terre de prairie, les adultes qui sont issus de pupes maintenues en surface sont tous morts endéans les 24 heures.

En conclusion de cet essai, on peut noter que certains produits comme l'aldrin et la dieldrin sont susceptibles de détruire les pupes situées superficiellement.

La même année, nous avons fait un essai de traitement en verger enherbé, très peu de temps avant le début des éclosions.

Le but était de vérifier si un traitement insecticide des herbages était susceptible de détruire les adultes avant leur envol.

La végétation était très dense et très haute. Chaque produit a fait l'objet d'application avec un pulvérisateur à moteur, à raison de 100 l. et de 500 l. de bouillie à l'are. Dans le second cas, il s'agit d'un traitement très copieux destiné à mouiller les herbes jusqu'à la base.

Les parcelles traitées étaient constituées de groupes de neuf

TABLEAU IV

Expérience en verger enherbé.

Effet sur la proportion de fruits véreux du traitement de la végétation sous jacente avant la sortie des adultes.

Produit	Concentration en M.A.	Quantité de bouillie sur 1 are	% de fruits attaqués sur l'arbre central	% de fruits attaqués sur le témoin le plus proche
D.D.T. Emulsion	0,1 %	100 l	36	20
	0,2 %	500 l	20	25
	0,1 %	500 l	33	25
	0,1 %	500 l	30	20
	0,1 %	500 l	25	32
Lindane Emulsion	0,05%	500 l	20	20
	0,05%	500 l	24	25
	0,05%	100 l	55	25
	0,05%	500 l	32	32
Chlordane Emulsion	0,06%	100 l	33	25
	0,06%	500 l	63	—
	0,06%	500 l	50	32
Aldrin	0,05%	100 l	20	25
	0,05%	500 l	67	20
	0,05%	500 l	54	32
Dieldrin	0,1 %	100 l	40	25
	0,1 %	500 l	40	32

arbres disposés en carrés. Le contrôle du résultat a porté sur le pourcentage de fruits attaqués sur l'arbre central.

De nombreuses observations nous ont montré que les adultes de la mouche de la cerise se déplacent peu dans le sens latéral. C'est pourquoi nous considérons le lot de neuf grands cerisiers largement suffisant pour que l'effet du traitement du sol sur toute l'étendue de la parcelle se marque d'une manière incontestable sur l'arbre central.

Les résultats, les produits utilisés, les concentrations et les quantités de liquide employées à l'are sont repris au tableau IV. Il montre que dans les conditions de l'expérience, le traitement du sol immédiatement avant le vol n'entraîne aucune réduction de l'attaque.

A plusieurs reprises l'intensité de l'infestation est plus forte dans la zone traitée que dans la zone témoin. Il n'est pas exclu que les insecticides aient décimé ou dispersé une faunule de prédateurs, par exemple les fourmis, faisant grosse consommation de jeunes imagos de mouche de la cerise lors de leur sortie du sol.

* * *

L'année suivante nous avons effectué un essai similaire avec deux produits : le lindane à raison de 0,012% de M.A. et la dieldrin à raison de 0,1% de M.A. Les pulvérisations ont été faites sur la base de 500 l. de solution à l'are, dans le courant du mois d'avril, soit environ un mois et demi avant les éclosions.

La grande quantité de liquide utilisée avait sa justification dans l'espoir d'agir sur les pupes logées dans le sol et sur les imagos gagnant l'air libre.

Lors du contrôle de juillet, les pourcentages de fruits attaqués étaient respectivement de 78% dans la zone traitée au lindane et de 96% dans la zone traitée à la dieldrin.

* * *

Nous avons conclu de cet ensemble d'essais que la destruction des pupes dans le sol ou des adultes en cours d'émergence n'est actuellement pas possible avec les produits expérimentés.

B. — Traitement du sol lors de l'abandon du fruit par les larves.

Comme dans le cas précédent, ces essais ont eu lieu à la fois en laboratoire et en verger.

Nous avons tout d'abord vérifié directement l'effet de divers insecticides sur les laves par simple immersion de celles-ci dans la préparation diluée.

Des lots de larves matures ont été trempées pendant 15 minutes dans des solutions de divers insecticides et placées ensuite en boîtes de Pétri sur sable humide. Il y avait deux témoins : un lot de larves immergées pendant 15 minutes dans l'eau avant le dépôt sur le sable humide et un autre placé directement sur celui-ci. La liste des produits utilisés, ainsi que les résultats de l'essai sont repris dans le tableau V.

TABLEAU V

Effet de l'immersion pendant 15 minutes de larves tertiaires dans les solutions insecticides.

Produit	Concentration en M.A.	% de mortalité
Chlordane (Emulison)	0,06 %	30
Toxaphène (Emulsion).............	0,06 %	22,5
H.C.H. (Suspension)	0,05 %	75
Lindane* (Emulsion)	0,012%	90
Parathion (Emulsion)	0,017%	70
D.D.T. (Suspension)	0,1 %	20
D.D.T. (Emulsion)................	0,1 %	0
Aldrin (Emulsion)	0,05 %	50
Dieldrin (Emulsion)	0,1 %	90
Lindane** (Emulsion)	0,012%	100
Témoin (immergé dans l'eau)		55
Témoin (non immergé)		20

* Lindane d'origine américaine.
** Lindane d'origine allemande.

Les données fournies par ce tableau montrent que certains produits: lindane, H.C.H., parathion et dieldrin témoignent d'une action larvicide. Malheureusement, le témoin constitué de larves immergées dans l'eau a subi une très forte mortalité; elle semble toutefois accidentelle puisqu'elle est supérieure à celle observée pour certains produits.

* * *

Pour juger, en laboratoire, de l'effet d'un sol traité sur la survie des larves descendantes, nous avons procédé comme suit. De la terre, contenue dans des terrines, a été arrosée avec les solutions d'insecticides, à raison de 5 l. au m². Le lendemain, un lot de cerises fortement attaquées susceptible de fournir 20 à 25 asticots a été suspendu au-dessus des récipients (1).

Les terrines ont été maintenues jusqu'à l'année suivante en insectarium à l'abri des pluies. Les éclosions ont été observées en mai et après la période de vol, la terre a été tamisée pour retrouver les pupes. Celles-ci ont été disséquées pour juger des causes de mortalité.

Les produits utilisés et les résultats de l'essai sont repris au tableau VI.

Si l'on compare les nombres de pupes retrouvées dans les divers lots, on constate à une exception près que ces chiffres sont assez constants. Le faible nombre de pupes obtenu dans le sol traité au lindane émulsion d'origine allemande est peut-être dû au fait que les larves ont été tuées avant même d'avoir pu s'empuper. Cette hypothèse est vérifiée par l'essai de trempage qui a donné 100% de mortalité dans le cas du même lindane. Un résultat moins heureux a été obtenu avec un lindane d'une autre origine utilisé à la même concentration.

Les pourcentages de mortalité observés dans les terrines traitées sont pratiquement tous plus élevés que ceux des témoins (le toxaphène excepté) mais trois d'entr'eux seulement atteignent un taux intéressant : ceux provoqués par le lindane d'origine allemande, l'aldrin et la dieldrin. Il est intéressant de noter que ces trois produits opèrent selon deux modalités différentes. Celui des lindanes ayant été actif, agit très précocement sur la nymphe tandis que les deux autres composés ont une action très tardive et tuent l'adulte après la mue imaginale.

L'action très précoce de cette préparation de lindane confirme l'hypothèse que le produit fait succomber la plupart des larves avant la pupaison.

*
* *

Dans un autre essai, pour apprécier l'action des produits insecticides sur les larves ou sur les nymphes au cours de l'hibernation, à l'exclusion de l'effet sur l'imago au cours de sa sortie de la pupe ou au cours de son trajet dans le sol, nous avons extrait des pupes du sol traité, un mois environ avant leur éclosion.

Celles-ci ont été ensuite observées en tube d'élevage. Les résultats sont repris au tableau VII.

---

(1) Nous avions tout d'abord procédé au dépôt d'un nombre connu de larves sur le sol traité, mais nous avons observé que les manipulations provoquent chez celles de *R. cerasi* une activité motrice intense : elles se déplacent beaucoup et une proportion importante d'entre elles s'empupe en dehors de la terrine. Au contraire, si elles sortent spontanément de la cerise, elles s'enfoncent immédiatement dans le sol.

TABLEAU VI

Traitement du sol lors de la descente des larves — Essais de laboratoire — Pupes maintenues en sol traité jusqu'à l'éclosion.

Produits	Concentrations en M.A.	Nombre de pupes retrouvées	Nombre de survivants			Nombre de morts				% de mortalité calculés sur les animaux retrouvés
			Adultes viables	Pupes bihivernantes	Total	Adultes morts à l'éclosion	Adultes morts en pupes	Nymphes mortes	Total	
Chlordane (Emulsion)	0,06 %	18	12	—	12	—	6	—	6	33
Toxaphène (Emulsion)	0,06 %	21	17	—	17	—	3	1	4	17
H.C.H. (Suspension). .	0,05 %	19	12	1	13	3	1	2	6	31
Lindane* (Emulsion).	0,012 %	20	12	—	12	6	—	2	8	40
Lindane** (Emulsion)	0,012 %	8	—	—	—	—	1	7	8	100
Parathion (Emulsion).	0,017 %	14	7	1	8	1	1	4	6	43
D.D.T. (Emulsion)...	0,1 %	14	6	—	6	—	4	4	8	64
D.D.T. (Suspension). .	0,1 %	22	13	2	15	6	—	1	7	31
Aldrin (Emulsion)....	0,05 %	22	1	1	2	5	14	1	20	91
Dieldrin (Emulsion). .	0,1 %	23	3	1	4	5	10	4	19	83
Témoin arrosé d'eau. .		15	12	1	13	1	—	1	2	13
Témoin non arrosé...		20	19	—	19	—	1	—	1	5

* Lindane d'origine américaine.
** Lindane d'origine allemande.

TABLEAU VII

Effets du traitement du sol lors de la descente larvaire — Essais de laboratoire — Pupes extraites du sol et mises en observation.

Produits	Concentrations en M.A.	Nombre de pupes retrouvées	Nombre de survivants			Nombre de morts				% de mortalité calculés sur les animaux retrouvés
			Adultes à éclosion normale	Pupes bihivernantes	Total	Adultes morts à l'éclosion	Adultes morts en pupes	Nymphes tuées	Total	
Parathion (Emulsion).	0,017 %	11	5	—	5	—	—	6	6	54,5
D.D.T (Emulsion)....	0,1 %	19	9	1	10	1	5	3	9	47,3
Chlordane (Emulsion)	0,06 %	28	11	2	13	1	14	—	15	53,5
Dieldrin (Emulsion)..	0,1 %	20	4	1	5	7	5	3	15	75
Lindane Américain .. (Emulsion)	0,012 %	17	12	—	12	—	3	2	5	29,4
Aldrin (Emulsion	0,05 %	18	4	—	4	3	11	—	14	77,7
Eau		20	17	—	17	—	—	3	3	15,0

Ceux-ci sont peu différents de ceux repris au tableau VI.

Notons cependant le faible nombre de pupes retrouvées dans le cas d'un traitement au parathion. Il faut remarquer également les mortalités plus élevées obtenues cette fois-ci en ce qui concerne le parathion et le chlordane, mais plus faible, en ce qui concerne le D.D.T., le lindane, l'aldrin et la dieldrin. Pour ces produits, l'effet toxique sur les larves ou au cours de la nymphose doit donc être complété par une action analogue sur les imagos au cours de leur libération ou immédiatement avant celle-ci.

* * *

Les essais de laboratoire ont été transposés en verger suivant les deux mêmes modalités. Le sol a été traité avant la descente larvaire. Au cours du mois d'avril suivant, soit neuf mois après le traitement, nous avons prélevé des carrés de terre dans les zones ayant subi l'arrosage. Dans le premier cas, ces carrés de terre contenant des pupes ont été mis en observation jusqu'en automne, époque à laquelle ils furent tamisés afin d'y retrouver les pupes. Celles-ci ont été examinées et les non écloses disséquées, afin de juger des causes de mortalité éventuelles. Dans un second cas, les carrés de terre prélevés ont été tamisés immédiatement et les pupes extraites de cette façon mises en élevage.

Dans les deux cas, le matériel vivant et l'insecticide ont subi l'effet du climat pendant plusieurs mois avant de se trouver dans l'atmosphère artificielle du laboratoire.

L'échantillon a consisté en carrés de 20 cm. de côté, découpés dans la couche superficielle du sol.

a) *Résultats après mise en observation de carrés de terre prélevés sur le sol traité*

Dans ce cas, nous n'avons appliqué les insecticides que par arrosage. Les surfaces traitées ont été de 4 m^2 de façon que, sous chaque arbre, nous ayons deux produits et un témoin. Le traitement s'est fait avant le début de la descente larvaire et la terre a été prélevée l'année suivante peu avant le début du vol, soit après 9 mois d'exposition aux intempéries. La quantité de solution utilisée correspondait à une application de 5 l. au m^2.

Le tableau VIII montre les résultats de cet essai.

Il n'y a qu'un seul cas où le nombre de pupes retrouvées dans le sol est significativement différent du témoin; celui du parathion. Par contre, les pourcentages de mortalité à l'éclosion sont significativement différents du témoin dans deux cas : l'aldrin et la dieldrin. Chaque fois, les mortalités se sont manifestées tardivement, c'est-à-dire après la mue imaginale.

TABLEAU VIII

Effets du traitement du sol lors de la descente larvaire — Pupes maintenues jusqu'a l'éclosion dans le sol.

Produits	Concentrations en M.A.	Nombre de pupes retrouvées	Nombre de survivants			Nombre de morts				% de mortalité calculés sur les animaux retrouvés
			Adultes à éclosion normale	Pupes bihivernantes	Total	Adultes morts à l'éclosion	Adultes morts en pupes	Nymphes tuées	Total	
Parathion (Emulsion)	0,017 %	29	21	—	21	1	6	1	8	27,5
Chlordane (Emulsion).	0,06 %	89	61	4	65	16	6	2	24	26,9
Témoin		67	48	10	58	2	6	1	9	13,4
D.D.T. (Emulsion)...	0,1 %	13	7	4	11	—	1	1	2	15,3
Lindane Américain... (Emulsion)	0,012 %	21	12	1	13	2	3	3	8	38
Témoin	0,05 %	29	19	5	24	1	2	2	5	17,2
Aldrin (Emulsion)....	0,1 %	69	19	—	19	27	22	1	50	72,4
Dieldrin (Emulsion)..		83	25	2	27	31	23	2	56	67,4
Témoin		108	58	19	77	12	14	5	31	28,7

Ces résultats confirment ceux obtenus en laboratoire. Signalons toutefois que le parathion, le D.D.T. et le chlordane se montrent moins efficaces qu'en laboratoire où le sol traité avait été maintenu à l'abri de la pluie. Le parathion manifeste surtout un effet larvicide se traduisant par une réduction du nombre de pupes. L'aldrin et la dieldrin agissent tardivement en tuant les adultes au moment de l'éclosion.

b) Résultats après extraction hivernale des pupes

Dans cet essai, les insecticides ont été appliqués sur le sol à raison de 5 l. au m², suivant deux méthodes différentes : par arrosage et par pulvérisation avec un pulvérisateur à dos.

TABLEAU IX

Effets du traitement du sol lors de la descente larvaire
Pupes extraites du sol 6 mois après le traitement.

Produits	Concentration en M.A.	Type (*) d'application	Nombre de pupes retrouvées	% d'éclosions observées	% de mortalité parmi les adultes éclos
Lindane américain (Emulsion)	0,012%	P	12	50	0
		A	113	25,6	3,4
Témoin			49	40,8	5
Chlordane (Emulsion)	0,06 %	P	110	66,3	23,3
		A	120	57,5	28,9
Témoin			137	67,8	2,2
Parathion (Emulsion)	0,017%	P	19	73,6	0
		A	18	61,1	9,9
Témoin			63	68,3	6,9
D.D.T. (Emulsion)	0,01 %	P	35	51,4	27,7
		A	30	46,6	7,1
Témoin			27	62.9	17,5
Aldrin (Emulsion)	0.05 %	P	27	81,5	72,7
		A	53	67,9	38,8
Témoin			36	58,3	0
Dieldrin (Emulsion)	0,1 %	P	79	53,2	57,1
		A	54	79,6	88,3
Témoin			104	71,2	0

(*) P : Traitement appliqué par pulvérisation.
A : Traitement appliqué par arrosage.

Les pupes ont été extraites du sol six mois après le traitement. Les résultats sont repris au tableau IX.

En ce qui concerne le nombre de pupes retrouvées, il n'y a que trois cas où celui-ci paraît valablement moins élevé en zone

traitée que dans le témoin; pour les deux applications de parathion et pour la pulvérisation au lindane. Par contre, l'application de ce dernier par arrosage n'a pas affecté la population de pupes.

En ce qui concerne les mortalités lors de l'éclosion, seuls deux produits ont fourni des résultats intéressants : l'aldrin et la dieldrin. Encore faut-il noter qu'il y a de grosses différences entre les résultats, suivant les deux modes d'application. Les résultats supérieurs obtenus parfois lors des pulvérisations paraissent imputables à une meilleure distribution du liquide.

En conclusion, on peut donc dire jusqu'à présent que dans les traitements du sol avant la descente larvaire, certains produits donnent des résultats intéressants mais que le nombre de survivants est encore trop élevé pour justifier leur intérêt économique.

Toutefois il convient de noter les faits suivants :

a) Le traitement du sol au parathion avant la descente larvaire peut réduire fortement le nombre de pupes formées. Cette observation s'est renouvelée chaque année lors des essais avec ce produit.

b) Une application d'aldrin ou de dieldrin, au même moment, ne réduit guère le nombre de pupes formées, mais tue beaucoup d'imagos avant ou après la dernière métamorphose.

c) Le traitement du sol avec un mélange de parathion et de dieldrin ou d'aldrin, dont les effets différents s'ajouteraient, permettra peut-être de ramener les populations de mouches de la cerise à un taux suffisamment bas.

C. — Traitement contre les œufs ou les jeunes larves.

Dès 1950, Monsieur van den Bruel, Directeur de la Station d'Entomologie, nous conseilla de tenter de détruire les jeunes larves en cours d'éclosion à l'aide de produits systémiques ou légèrement télétoxiques. Dès les premiers essais, nous avons obtenu des résultats intéressants. Si nous n'avons pas préconisé ces traitements, c'est qu'à notre avis la pulvérisation de ces substances excessivement toxiques, peu de temps avant la récolte, présente un problème de résidus qui s'ajoute à celui non moins délicat de la sécurité du travailleur et des personnes se trouvant dans le voisinage au cours de l'application. Le problème est particulièrement aigu dans le cas de cerisiers de grande taille situés à proximité de maisons et pour les jardins dans les quartiers populeux.

Toutefois, devant la tendance nouvelle qui se fait jour en matière de lutte contre la Mouche de la cerise, nous donnons ici les résultats de nos expériences.

Les premiers essais ont porté sur les produits suivants :

parathion utilisé aux doses de 0,017% et 0,035% de M.A., lindane à 0,012% de M.A. et un insecticide systémique, le shradan à 0,15% de M.A.

Chacun de ces produits a été appliqué en traitement simple et double, ce dernier à 10 jours d'intervalle. Le premier traitement a été effectué quelques jours après le début de la ponte. Les liquides ont été appliqués copieusement.

Des fruits traités au parathion ont été remis au Centre de Phytopharmacie aux fins de recherche des résidus toxiques. Ils ont permis à Mme van den Bruel-Dormal de montrer, dès 1952, la disparition relativement rapide du parathion retenu par les cerises (1).

Les résultats des traitements sont repris au tableau X.

TABLEAU X

Effets des insecticides télétoxiques sur les jeunes larves.

Produits	Concentrations en M.A.	% de fruits atteints à la récolte	
		Arbres ayant subis un traitement	Arbres ayant subis deux traitements
Parathion (Emulsion	0,017%	28	2
Parathion (Emulsion)	0,035%	6	6
Lindane allemand (Emulsion)	0,012%	62	52
Shradan	0,15 %	8	6
Témoin		64	64

Les chiffres donnés dans celui-ci montrent que le parathion appliqué deux fois aux doses normales permet de réduire le taux de l'attaque à un chiffre très bas. Une dose double, même appliquée deux fois, ne paraît pas nécessaire. L'insecticide systémique ne paraît pas supérieur au parathion. Quant au lindane, il n'a manifesté aucune action de valeur pratique.

Un second essai a porté sur les produits suivants : lindane émulsion utilisé à 0,012%, chlordane émulsion à 0,06%, parathion à 0,025% et 0,05%. Le traitement n'a été appliqué qu'une seule fois. Lors de la pulvérisation, nous avons relevé sur chaque arbre traité les pourcentages de pontes écloses et non écloses. De même, lors du contrôle du traitement à la récolte, nous avons séparé

les pourcentages de pontes, de larves et de pontes écloses dont la larve n'a pas été retrouvée.

Les résultats sont repris au tableau XI.

TABLEAU XI

Effets de divers insecticides sur les larves.

Produits	Concentrations en M.A.	Etat d'attaque lors du traitement			Etat d'attaque à la récolte			
		% de pontes	% de pontes écloses	Total	% de pontes	% de larves	Total	% de pontes écloses dont la larve ne fut pas retrouvée
ane ...... Emulsion)	0,012%	54,1	8,3	62,4	4	92	96	0
ane ...... ıspension)	0,012%	52,1	17,3	69,4	0	100	100	0
rdane .... Emulsion)	0,06 %	61,2	8,1	69,3	0	72	72	0
thion américain Emulsion)	0,025%	35,7	28,5	64,2	16,0	16,0	32,0	43,0
thion allemand Emulsion)	0,025%	60,5	10,5	71,0	7,1	14,2	21,3	76,5
thion allemand Emulsion)	0,05 %	69,4	8,3	77,7	10,7	10,7	21,4	82,4
oin		—	—	—	3,2	90,3	93,5	0

Ces chiffres confirment ceux obtenus dans le premier essai. Le parathion en simple application réduit fortement l'attaque mais dans des proportions insuffisantes. Le renforcement de la dose n'influence pas le résultat. Le parathion américain paraît avoir été moins efficace que le parathion allemand. Toutefois, dans la zone traitée avec le premier, l'attaque était plus avancée au moment de l'application, c'est-à-dire qu'un plus grand nombre d'œufs étaient éclos.

Il semble donc à la suite de ces essais que l'on puisse retenir comme valable le traitement curatif au parathion en deux applications.

* * *

Il est apparu récemment sur le marché un nouvel insecticide organo-phosphorique, le diazinon, dont la toxicité vis-à-vis des animaux a sang chaud est inférieure à celle du parathion. Nous avons comparé l'efficacité de ces produits suivant différentes modalités d'application.

Chacun des deux produits a été utilisé seul et en mélange avec le D.D.T. Enfin dans chacun des quatre cas, une partie des arbres a subi un seul traitement et l'autre partie un second traitement avec le composé organo-phosphoré seul.

Le premier traitement a eu lieu au début de la période des éclosions larvaires et le suivant à cinq jours d'intervalle suivant les prescriptions d'usage.

Les résultats sont repris au tableau XII.

TABLEAU XII

Effets comparatifs des traitements au Diazinon et au Parathion.

Produits	Concentrations en M.A.	% d'attaque à la récolte	
		Un seul traitement	Deux traitements (*)
Diazinon	0,02 %	35	25,3
Diazinon .... + D.D.T.	0,02 % + 0,1 %	23,3	18,6
Parathion	0,017%	14	2
Parathion .... + D.D.T.	0,017% + 0,1 %	10,6	0,66

(*) Le second traitement a été effectué avec l'organophosphoré seul.

Il montre que *dans les conditions de notre expérience*, le parathion s'est montré supérieur au diazinon. En ce qui concerne le parathion, cet essai confirme les précédents, c'est-à-dire que deux traitements sont nécessaires pour ramener le taux de l'attaque à un niveau suffisamment bas. Il semble s'avérer que le double traitement, parathion + D.D.T. suivi de parathion seul parvient à une éradication presque totale du ravageur.

Les essais avec le diazinon ne sont pas clôturés car les propriétés attribuées à ce produit actif offrent un intérêt évident au point de vue pratique. Cet insecticide figurera donc en bonne place dans le programme de nos prochaines expériences.

Discussion

Des quatre méthodes de lutte possible contre la Mouche de la cerise, il semble qu'il ne faille jusqu'ici en retenir que deux : la lutte contre les adultes avant la ponte et l'utilisation de substances télétoxiques contre les jeunes larves.

Les essais de traitement du sol, malgré des débuts encourageants, se sont avérés d'une efficacité insuffisante. Le nombre de mouches survivantes est toujours trop élevé. Malgré ces premiers échecs, nous poursuivons nos recherches dans ce sens. En effet, il n'est pas exclu que l'utilisation au moment propice de combinaisons d'insecticides, parathion et dieldrin par exemple, n'apporte enfin une solution au problème de la lutte contre *R. cerasi* dans les jardins de ville et les endroits inaccessibles aux gros pulvérisateurs.

Les conclusions de nos expériences de 1950 et des années suivantes avec le parathion, ont trouvé leur confirmation dans des publications parues entretemps à l'étranger et ayant trait à la lutte contre la Mouche de la cerise ou contre d'autres Trypetidae. (2-3-4-5-7). Vogel (7) entr'autre, a obtenu avec ce produit les mêmes bons résultats contre les larves dès leur éclosion, mais les mêmes déceptions lors des traitements du sol.

On dispose donc, en conclusion, de deux bonnes méthodes de lutte s'inspirant de principes différents :

a) Une méthode préventive : la destruction des adultes avant la ponte au moyen de D.D.T.

b) Une méthode curative : la destruction des jeunes larves dans le fruit au moyen de parathion.

On peut y ajouter une méthode mixte consistant en une application d'un mélange de D.D.T. et de parathion, suivie d'une application de parathion seul.

La première méthode a une grande efficacité à condition d'opérer au moment favorable. Elle présente l'inconvénient de laisser sur les fruits un résidu non négligeable d'insecticide.

La seconde méthode, pour laquelle la date d'application présente une moins grande importance, peut nécessiter un nombre plus élevé de pulvérisations si l'on tient à obtenir le maximum d'effet.

L'utilisation de la méthode mixte réduit le nombre de traitements, mais ne diminue pas les dangers dus à l'utilisation de substances très toxiques dans certaines conditions particulières.

Il reste donc à trouver un moyen présentant les avantages de la deuxième méthode, mais qui ferait appel à un insecticide moins toxique. Les travaux de Häfliger (4) à ce sujet sont encourageants. Nos recherches au cours des prochaines années se poursuivront également dans ce sens.

BIBLIOGRAPHIE

1. DORMAL, S. — *Parasitica* **X-3**, pp. 60-96, 1954.
2. FENILI, G. A. — *Redia* **36**, pp. 267-275, 1951.
3. FRICK & SIMKOVER. — *Journ. Econ. Entomol.* **42-2**, pp. 361-362, 1953.
4. HAFLIGER, E. — *Z. f. Pflanzkrankh. u. Pflanzschutz.* **60-5**, pp. 246-260, 1953.
5. SHERMANN. — *Jour. Econ. Entomol.* **44-5**, p. 809, 1951.
6. THIEM, H. — Intern. Kongr. Entomol. Berlin 1938, pp. 1-15.
7. VOGEL, W. — *Anz. f. Schädlingskunde,* **XXV-7**, pp. 100-102, 1952.
8. WIESMANN, R. & FENJES, P. — *Sweiz. Zeitschr. f. Obst- und Weinbau* **LV**, pp. 1-7, 1944.

OVERDRUK UIT MEDEDELINGEN VAN DE LANDBOUWHOGESCHOOL EN DE OPZOEKINGSSTATIONS VAN DE STAAT TE GENT. 1956. DEEL XXI. N° 3

DESTRUCTION DES DEPREDATEURS DANS LES ALIMENTS PAR LES CHAMPS ELECTRIQUES A HAUTES FREQUENCES

par

D. Bollaerts, F. Pietermaat
et W. E. van den Bruel

I. INTRODUCTION

Toutes les denrées alimentaires sont susceptibles d'être infestées par de nombreuses espèces d'Insectes et d'Acariens, et de subir de ce fait des altérations les rendant rapidement inutilisables. Ces ravageurs peuvent être combattus de diverses manières. Le procédé de lutte le plus couramment utilisé réside dans l'emploi de produits chimiques. D'autres existent cependant, basés sur des moyens mécaniques ou physiques, lesquels offrent le grand avantage d'éviter toute introduction de matières étrangères dans les aliments. Parmi ces derniers, l'utilisation de la chaleur offre des possibilités non négligeables.

Les Insectes et les Acariens sont très sensibles à l'élévation de la température. La résistance de l'animal varie d'une espèce à l'autre et aussi en fonction du stade de développement; elle est encore influencée par le taux d'humidité du milieu, la durée de l'effet calorifique, l'état d'alimentation du sujet, son ,,âge physiologique'', le sexe, les caractères individuels, etc...

En pratique, une température de 60° C tue en quelques minutes tous les Insectes et Acariens quel que soit leur stade de développement. Les espèces nuisibles aux denrées alimentaires sont toutefois bien abritées au sein d'une masse de marchandise mauvaise conductrice de la chaleur. Le chauffage par conduction d'une farine, par exemple, fait sentir ses effets en profondeur progressivement et lentement; la matière doit être présentée en couche mince et être soumise à un traitement prolongé sinon toutes les parties de la masse n'atteignent pas la température requise pour assurer le succès de l'opération. Le traitement sera extrêmement long avant que la réparation uniforme de la température soit acquise, ce qui présente bien des inconvénients, ou sera mené à des températures plus élevées afin de réduire sa

durée, ce qui expose les couches extérieures de la marchandise à des altérations.

Les champs électriques à hautes fréquences offrent une possibilité de chauffage dépourvue de ces inconvénients. L'élévation de température est obtenue dans ce cas par des phénomènes d'ordre moléculaire et intra-moléculaire déclanchés au sein des matières mauvaises conductrices (diélectriques) introduites dans le champ, qui y sont soumises aux effets du champ électrique changeant de polarité à une cadence extrêmement rapide. Deux faits avantageux en résultent :

1°) l'échauffement se manifeste simultanément dans toute la masse de la marchandise car chacune de ses particules subit l'effet du champ quelle que soit sa position périphérique ou centrale,

2°) l'élévation thermique obtenue dépend des caractéristiques du champ électrique, elle peut être élevée et elle est obtenue en fort peu de temps : en quelques minutes, parfois même en quelques secondes toute la marchandise peut être portée à la température désirée.

L'échauffement par champ électrique à haute fréquence s'oppose donc à celui obtenu par conduction par la génération quasi instantanée de la chaleur désirée dans toutes les parties de la marchandise traitée.

II. APPAREILLAGE UTILISE

Une installation de chauffage par haute fréquence n'est autre chose qu'un émetteur radio-électrique, dont l'énergie n'est pas envoyée dans l'espace mais est concentrée sur le sujet. A cette fin les matériaux à traiter sont placés entre les plaques d'un condensateur alimenté par un courant alternatif à haute fréquence.

Tous nos essais ont été effectués à l'Institut d'Electro-Technique de l'Université de Louvain, au moyen d'un générateur fourni par les Ateliers de Construction Electrique de Charleroi. Cet appareil peut développer une puissance utile de 2,5 kW. L'ampérage utilisé caractérise la puissance mise en œuvre lors des traitements : celle-ci atteint son maximum pour un courant de 1,3 A. L'appareil fonctionne à une fréquence fixe d'environ 40 MHz, ce qui correspond à une longueur d'onde de 7,5 m.

Les marchandises à traiter sont à introduire entre deux plaques en aluminium, dont l'écartement et les dimensions peuvent être modifiés à volonté.

Le matériel biologique nécessaire aux expériences a été préparé à la Station d'Entomologie de l'Etat, traité à l'Institut d'Electrotechnique puis ramené dans le premier laboratoire aux fins d'examen immédiat, de mise en incubation et de réexamen périodique.

III. LES EXPERIENCES

La place fait défaut pour reprendre le détail des expériences effectuées. Elles furent menées soit sur grains, soit sur flocons d'avoine. Différentes espèces de ravageurs furent utilisése pour les essais, mais nous ne retiendrons ici que la Calandre : *Sitophilus granarius* L. et les Acariens *Tyroglyphus farinae* L. et *Tyroglyphus longior* Gerv. Parmi les autres espèces examinées, citons la Pyrale de la farine *Ephestia kühniella* ZELL. dont la sensibilité à ce procédé de destruction est analogue à celle des autres ravageurs étudiées.

A. *Sitophilus granarius* L.

Les adultes circulant librement entre les grains ont manifesté une plus grande résistance au traitement que les stades jeunes logés dans les graines. Voici quelques extraits des résultats obtenus :

Adultes circulant librement entre les grains de froment :

Traitem. A.* — durée : 62 s — temp. max. : 54° C — mortalité après 1 jour : 99 %
Traitem. A. — durée : 68 s — temp. max. : 59° C — mortalité après 1 jour : 100 %
Traitem. B.* — durée : 60 s — temp. max. : 49° C — mortalité après 1 jour : 92 %
Traitem. B. — durée : 75 s — temp. max. : 55° C — mortalité après 1 jour : 100 %
Traitem. C.* — durée : 55 s — temp. max. : 50° C — mortalité après 1 jour : 94 %
Traitem. C. — durée : 65 s — temp. max. : 55° C — mortalité après 1 jour : 100 %

Chaque expérience a été menée sur 100 adultes. La température requise pour atteindre 100% de destruction a donc oscillé entre 55 et 59° C, soit pour la pratique 60° C.

Larves âgées de 10 à 12 jours (**) :

Traitement B. — durée 35 s — température max. : 44° C — mortalité : 64%
Traitement B. — durée 60 s — température max. : 49° C — mortalité : 100%

La mortalité a été déduite arbitrairement du rapport existant entre le nombre d'adultes obtenu dans le témoin non traité mis en observation et celui fourni dans des conditions identiques par l'échantillon traité. Cette mortalité n'a aucune valeur absolue car nous ne connaissons pas le nombre de larves viables existant dans l'échantillon lors du passage dans le champ électrique. Toutefois, la proportion obtenue permet d'apprécier l'effet du traitement, et le renseignement ne prête plus à discussion lorsque le taux de destruction atteint 100%. Lors du traitement B, le

(*) Caractéristiques des traitements — Electrodes : 25 × 15 cm — Ecart entre les électrodes : 5,3 cm — Intensité : 1,25 A.

(**) Obtenus par ponte pendant 48 h, quinze jours avant le traitement, sur du froment maintenu à 26° C et 75 à 85 % d'humidité relative.

témoin a fourni après mise en incubation 277 adultes, l'échantillon soumis pendant 35 secondes à l'action du champ électrique n'en a donné que 101, et aucune éclosion n'a eu lieu en trois mois de temps dans aucun des lots traités pendant 60, 75 et 85s (dont la température maximale fut respectivement de 49-55 et 65° C).

Une expérience similaire, menée avec des larves âgées, des nymphes et des adultes en loges nymphales, à donné lieu à 0% de mortalité pour une température de 44° C (durée du traitement 44s) et 100% de mortalité pour une température de 50° C (durée du traitement 55s). Une autre, effectuée avec des œufs pondus pendant les 48 h. précèdant l'essai, a fourni 100% de mortalité pour l'échantillon ayant été porté à la température de 54° C par un traitement de 62s, la survie étant de 96% dans le lot maintenu dans l'appareil pendant 32s, et dont la température a atteint 40° C seulement.

Ces expériences montrent qu'il suffit de porter la température de la marchandise à 50° C (c'est-à-dire de soumettre celle-ci aux effets du champ pendant une minute environ dans les conditions opératoires utilisées) pour tuer la totalité des larves et des nymphes logées en profondeur dans les graines. Ce même résultat absolu n'a été atteint pour les adultes dans des conditions de travail identiques ou similaires que par une durée de traitement de 65 à 75 secondes ayant pour effet de porter cette température entre 55 et 60° C.

B. *Tyroglyphus farinae* L et *T. longior* Gerv.

Les Acariens sont susceptibles de se multiplier rapidement dans les denrées et de les rendre impropres à la consommation. Ils existent partout et leur petit taille (0,1 à 0,7 mm de longueur pour les espèces rencontrées dans ce cas) leur permet de se faufiler aisément dans les marchandises manufacturées. Il suffit d'une augmentation du degré d'humidité du milieu pour déclancher la pullulation du déprédateur.

L'observation prolongée des *Tyroglyphus* vivants offre quelques difficultés. Les techniques spéciales requises nous étant familières et la question n'ayant pas été abordée par d'autres auteurs, nous avons procédé à un certain nombre d'expériences menées sur flocons d'avoine.

Les premiers essais ne furent pas entièrement satisfaisants mais, après quelques tâtonnements, nous sommes parvenus à surmonter les difficultés opératoires. Nous avons utilisé simultanément des flocons d'avoine fortement infestés par les Acariens et des Acariens enfermés dans des cellules construites au moyen de matières plastiques (Acrylic sheet Perspex).

L'état d'infestation de la marchandise traitée a été vérifié par passage des échantillons dans l'extracteur type Berlèse et la mortalité a été exprimée en prenant pour référence le nombre d'Acariens obtenu dans des conditions similaires pour l'échantillon du témoin non traité. L'effet du champ électrique a pu être vérifié en outre par simple recherche au microscope de Greenough des Acariens survivants dans les cellules traitées simultanément : ceci a donc constitué une méthode de contrôle précise et directe de l'efficacité de l'opération.

L'examen des flocons d'avoine traités a révélé une grande sensibilité des Acariens à ce mode de traitement. Une proportion de destruction de 99% a été constatée pour une opération d'une durée de 30s portant la marchandise à la température de 37° C. La prolongation de la durée d'exposition amenant la température de la marchandise jusque 65 et même dans un cas à 86° C, n'a cependant pas permis d'atteindre 100% de mortalité.

Le contrôle des Acariens enfermés dans les cellules en plastic a démontré l'efficacité totale du traitement pour les Acariens inclus dans la marchandise dès que la température de la masse est portée à 50° C dans un cas, à 59° C dans un autre, 47° C s'étant montré insuffixant la première fois, et 48° C la seconde (la durée du traitement efficace ayant été respectivement d'au moins 45s et 25s) (*).

Par contre tous les Acariens enfermés dans des cellules en matière plastique exposées simultanément aux effets des mêmes champs électriques mais placées en dehors de la marchandise ont survécu, même lorsque les modalités de traitement ont été telles que la température des flocons d'avoine a atteint 86° C.

Cette expérience démontre la pleine efficacité à l'égard des Acariens (**) du traitement au moyen de champs électriques à hautes fréquences pour autant que ces êtres soient intimement mêlés à la marchandise. Par contre, ceux d'entr'eux qui circulent à l'air libre peuvent échapper à l'effet mortel. Cette déduction est confirmée par l'examen des lots après les traitements : ils renferment d'innombrables cadavres d'Acariens mais les rares survivants sont toujours à rechercher dans les plis de la cellophane proches de la ligature fermant le sachet, c'est-à-dire dans les espaces libres de matière traitée.

Une dernière expérience apporte la preuve de l'exactitude

(*) Caractéristiques des traitements :
A) Dans le premier cas : Electrodes : 17,5 × 10 cm — Ecart entre électrodes : 10 cm — Intensité : 1 A.
B) Dans le deuxième cas : Electrodes : 23 × 10 cm — Ecart entre électrodes : 8,5 cm — Intensité : 1 A.

(**) Les expériences concernent les divers stades de développement des Acariens, sauf les hypopes.

de ces déductions. Le flocon d'avoine fortement infesté par les Acariens a été enfermé dans des boîtes quadrangulaires en carton s'insérant exactement entre les électrodes du générateur. Les boîtes ont été remplies avec grand soin afin d'éviter tout espace inoccupé, puis rendues parfaitement étanches. Quelques orifices ont été ouverts immédiatement avant le traitement, puis bouchés aussitôt après l'opération afin d'éviter toute déformation du contenant sous la pression des gaz chauds. La moitié du contenu des paquets a été enlevée le lendemain et les boîtes aussitôt refermées avec le plus grand soin puis mise en incubation pendant six mois à 26°C dans un milieu humide (75 à 85% d'humidité relative). L'ouverture des boîtes à l'issue de cette période de conservation a révélé que les flocons d'avoine portés à la température maximale de 54° C se trouvaient en excellent état et dépourvus de tout Acarien; il en était de même pour les lots ayant subi un traitement plus rigoureux. Par contre, les témoins non traités et les lots dont la température avait atteint 41 et 48° C renfermaient d'énormes populations d'Acariens et avaient fermenté : ils étaient complètement détruits.

La destruction des Acariens dans les denrées emballées est donc possible par l'exposition aux effets des champs électriques à haute fréquence, pour autant que le conditionnement de la marchandise ne permette pas l'existence d'espaces libres réduisant l'efficacité de l'opération. La température à atteindre ne dépasse pas 55° C dans les conditions expérimentées.

IV. CONCLUSIONS

Les expériences auxquelles nous avons procédé font suite aux travaux de Haedlee et al., Pyenson, Webber et al. et de quelques autres sur l'emploi des champs électriques à hautes fréquences pour détruire les insectes dissimulés à un stade quelconque de développement à l'intérieur des graines ou d'autres organes de la plante, ou enfouis dans une denrée, et dont Morris Thomas a fait en 1952 une étude d'ensemble théorique. L'usage croissant des générateurs de courants à haute fréquence en médecine et dans l'industrie confère au problème un caractère d'actualité incontestable.

Nos expériences ont confirmé l'efficacité de cette technique, tant pour les Insectes que pour les Acariens. Les marchandises traitées conservent toutes leurs qualités, sauf les semences dont l'énergie germinative peut être affectée par l'intensité du traitement nécessaire pour assurer la destruction complète de certains ravageurs.

Il suffit, pour les modalités de travail adoptées dans cette étude, d'exposer les denrées de manière à porter leur température jusqu'à 55° C pour assurer l'anéantissement des *Tyroglyphus* sp. et des jeunes stades de développement (œufs, larves et nymphes) de la Calandre du Blé : *Sitophilus granarius* L. Il est probable que cette température puisse être considérée comme la limite supérieure de celle nécessaire pour détruire tous les organismes animaux logés *dans* la denrée, et qu'elle puisse être souvent ramenée à 50° C. Une température inférieure est insuffisante. Lorsque les Calandres adultes circulent entre les grains, la température requise est de 55 à 60° C. Il en est probablement de même pour d'autres Coléoptères se tenant dans les espaces inoccupés par la marchandise. Ces limites sont inférieures à celles recommandées par Webber (70° C), ce qui est probablement dû à la différence de longueur d'onde (27 m, soit 11 MHz pour l'appareil de Webber, contre 7,5 m, soit 40 MHz pour le générateur utilisé par nous).

Notre étude a mis en évidence la grande importance qu'il y a lieu d'accorder à l'emballage de la marchandise (forme, remplissage, etc...) pour assurer l'efficacité du traitement. Ce facteur joue avec une intensité toute particulière dans le cas de la lutte contre les Acariens.

Le traitement des semences demande de nouvelles recherches. Il est probable que la température requise pourra être abaissée dans certains cas par l'élimination par triage des insectes errants. La combinaison des deux opérations permettra peut-être d'effectuer le traitement dans le respect des limites de comptabilité avec la conservation de l'intégralité des qualités germinatives de la graine.

RESUME

Les expériences ont été effectuées avec un générateur d'une puissance utile de 2,5 kW créant un champ électrique caractérisé par une fréquence de 40 MHz, ce qui correspond à une longueur d'onde de 7,50 m.

Les essais ont confirmé la possibilité de détruire les divers stades de développement de la Calandre (*Sitophilus granarius* L.) dans les grain et les Acariens (*Tyroglyphus farinae* L.) infestant des flocons d'avoine en soumettant simplement pendant quelques instants les marchandises emballées aux effets du champ électrique fourni par l'appareil utilisé.

La durée de traitement dans nos conditions expérimentales oscille autour d'une minute. La température de toute la masse de ces marchandises introduites dans le champ s'élève brusquement et il suffit qu'elle atteigne un maximum de 50 à 55° C pour assurer l'anéantissement des Acariens et des divers stades de développement de la Calandre, mais elle doit être portée de 55 à 60° C pour assurer 100% de destruction des adultes errants.

Les marchandises traitées ne subissent aucune altération perceptible.

Le cas des semences est réservé, la sensibilité de leur énergie et pouvoir germinatifs exigeant des ménagements particuliers.

SAMENVATTING

Verdelging der verwoesters in eetwaren door hoogfrequente verwarming

De proeven werden uitgevoerd door middel van een generator met een nuttig vermogen van 2,5 kW en een vaste frequentie van ongeveer 40 MHz, hetgeen overeenstemt met een golflengte van 7,5 m.

De bekomen uitslagen bevestigen de mogelijkheid om alle ontwikkelingsstadia van de graankalander (*Sitophilus granarius* **L.**) binnen in de graankorrels en van mijten (*Tyroglyphus farinae* **L.**) in havervlokken te vernietigen, door de verpakte waren gedurende enkele stonden in het electrisch veld van de generator te houden. Bij onze proefnemingen schommelde de duur der behandeling rond één minuut.

Wanneer de waar in het electrisch veld gebracht wordt, stijgt de temperatuur plotseling in heel de massa en om de vernietiging van de mijten en de verschillende ontwikkelingsstadia

van de graankalander binnen in de korrels te bekomen, volstaat het een temperatuur van 50 tot 55° C te bereiken; deze laatste moet echter tot op 55 à 60° C gebracht worden om de vrije kevers tussen de graankorrels 100% te doden.

Er werd geen schade vastgesteld aan de behandelde eetwaren.

Voorbehoud dient gemaakt voor de zaden, welke door hun gevoeligheid betreffende kiemkracht en kiemenergie speciale voorzorgsmaatregelen kunnen vergen.

SUMMARY

Pest-control in foodstuffs by high-frequency electric fields

The experiments have been performed with a generator having an actual power of 2,5 kW and developping an electric field characterized by a frequency of 40 MHz, which correspond to a wavelength of 7,50 m.

The tests have confirmed the possibility of destroying the different stages of development of weevils (*Sitophilus granarius* L.) in grain and mites (*Tyroglyphus farinae* L.) infesting oat-flakes by short exposition of packed food to the effect of high-frequency electric-fields produced by the used apparatus.

The treatment period with this material is of about one minute. The temperature of the whole stuff which has been introduced in the electric field arises promptly; a maximum of 50-55° C is sufficient to assume the destroying of the mites and the different stages of development of the weevils, but the temperature needs to reach 55-60° C to assure 100% of destruction of the rambling adults.

The treated foodstuffs are not undergoing any detectable alteration. In the case of seeds, the sensitivity of their germinating power and speed needs special care which has yet not been studied.

1. HAEDLEE, T. J. et BURDETTE, R. C. — *Journ. N. Y. Ent. Soc.*, **XXXVII**, p. 59, 1929.
2. HAEDLEE, T. J. — *Journ. Econ. Ent.*, **XXIV**, p. 427, 1931.
3. HAEDLEE, T. J. — *Journ. Econ. Ent.*, **XXV**, p. 276. 1932.
4. HAEDLEE, T. J. — *Journ. Econ. Ent.*, **XXVI**, p. 313, 1933.
5. PYENSON, L. — *Journ. N. Y. Ent. Soc.*, **XLI**, p. 241, 1933.
6. HAEDLEE, T. J. et JOBBINS, D. M. — *Journ. Econ. Ent.*, **XXIX**, p. 181, 1936.
7. HAEDLEE, T. J. et JOBBINS, D. M. — *Journ. Econ. Ent.*, **XXXI**, p. 559, 1938.
8. WEBBER, H. H., WAGNER, R. P. et PEARSON, A. G. — *Journ. Econ. Ent.*, **XXXIX**, p. 487, 1946.
9. JACQUIOT, M. — C. R. Acad. Agr. de France, p. 637, 1949.
10. GRISON, P. et MARTOURET, D. — *C. R. Acad. Agr. de France*, n° 12, p. 422, 1951.
11. PIETERMAAT, F. — *Technisch Wetenschappelijk Tijdschrift*, **XVI**, p. 275, 1947.
12. PIETERMAAT, F. — *Technisch Wetenschappelijk Tijdschrift*, **XIX**, p. 135, 1950.
13. MORRIS, T. A. — Pest Control by High-Frequency Electric Fields. Critical Resume London. 1952.
14. PIETERMAAT, F., VAN DEN BRUEL, W. E., BOLLAERTS, D. et VAN DIJCK, N. — Zilveren-Jubileumboek van de Koninklijke Vlaamse Ingenieursvereniging. 1928-1953 (1955).

B. Trouvelot, Versailles

Je suis heureux d'enregistrer les progrès très nets faits par une technique nouvelle et la possibilité d'entrevoir maintenant certaines applications pratiques, surtout pour les denrées alimentaires en petits emballages. Je crois utile de signaler des premiers essais faits en France de l'emploi de champs électriques à hautes fréquences pour combattre certains insectes du bois ouvré.

MULTIRESISTENTIE BIJ DE KAMERVLIEG *MUSCA DOMESTICA L.* OPGEWEKT DOOR SELECTIE MET INSECTICIDEN

door

J. Meltzer

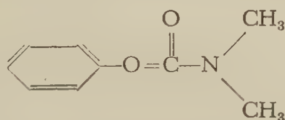
N.V. PHILIPS-ROXANE

Mededeling van het Agrobiologisch Laboratorium ,,Boekesteyn", 's-Graveland Nr 39

1. Inleiding

Sinds 1947 zijn talrijke publicaties verschenen over het resistentieprobleem, speciaal met betrekking tot resistente kamervliegen. Daar het resistentieprobleem voor de insectenbestrijding van grote betekenis is, betrokken wij resistente vliegenstammen in ons onderzoek. Aanvankelijk deden wij proeven met resistente stammen, welke wij uit Denemarken, Zweden en later zelfs uit een enkele plaats van ons eigen land ontvingen. De eigenschappen van deze verschillende stammen liepen sterk uiteen, terwijl de geschiedenis van deze stammen slechts fragmentair bekend was. Zo ontstond de behoefte aan het ontwikkelen van stammen, waarvan de oorspronkelijke gevoelige stam en de geschiedenis geheel bekend waren.

Als normale stam beschikken wij o.m. over de stam L, afkomstig van een wilde populatie uit een stal in 's-Graveland, en verzameld vóórdat daar ooit een insecticide was toegepast. Voorts bezitten wij een stam G, die ontwikkeld werd uit de nakomelingen van één ouderpaar. Uit de stam L ontwikkelden wij een lindaanresistente stam (RL), een DDT-resistente stam (RD) en een fosforester-resistente stam (RP). De stam RS werd uit de stam G ontwikkeld door selectie met N,N-dimethyl phenylcarbaminaat, een experimenteel insecticide, aangeduid met de codenaam S17 :



In de literatuur wordt in het algemeen de opvatting gehuldigd, dat de resistentie een vrij specifieke reactie is op een bepaald in-

secticide, en dat slechts multiresistentie optreedt, indien de selectie met verschillende typen van insecticiden heeft plaatsgevonden. Bruce & Decker (1950) vermeldden reeds multiresistentie, maar hier betrof het twee stammen, die met een combinatie van middelen geselecteerd waren, n.l. een stam, geselecteerd met DDT + methoxychloor en een stam, geselecteerd met pyrethrinen + piperonyl butoxyde. Pimentel & al. (1953) vonden bij selectie met één van de gechloreerde insecticiden of met parathion steeds een geringe resistentie tegen de niet gebruikte middelen.

Uit onze proeven bleek, dat de resistentie een ongekende hoogte kon bereiken. Bovendien kon worden vastgesteld, dat de resistentie tegen insecticiden een veel algemener karakter had, dan op grond van de selectie met één middel werd verwacht. De resistentie tegen andere middelen kan soms zelfs veel hoger zijn dan tegen het bij de selectie gebruikte middel. Daar deze feiten tenslotte een bizonder licht werpen op de reeds bekende gegevens omtrent de mechanismen van de resistentie, leek het ons nuttig onze resultaten te publiceren.

2. Methoden

De selectie vond plaats door van elke generatie 200-400 vliegen van 0-1 dag te behandelen met een dosis insecticide, waarvan een sterfte van ongeveer 90% verwacht werd. Het insecticide werd daarbij in een emulsie op basis van een xyleenoplossing verneveld in een kweekkast. De eieren van de overlevende vliegen werden overgebracht in een voedingsbodem, welke aanvankelijk eveneens met het betreffende insecticide behandeld was.

Zoals fig. 1 te zien geeft, nam de LD 90 voor lindaan snel toe, waardoor na enkele generaties ook de dosis xyleen aanmerkelijk vergroot werd. Daar gevreesd werd voor een nadelige werking van de hoge doses xyleen, werd de dosis na de 10e generatie niet meer verhoogd. Dientengevolge daalde het sterftepercentage bij de selectie tot 40%, en later werd dan ook overgegaan tot een oppervlaktebehandeling in glazen potten van ± 3 l inhoud, door middel van een acetonische oplossing. Na verdamping van de aceton werden 100 vliegen per pot 24 uur aan dit residu blootgesteld.

De gevoeligheid der generaties werd getoetst met de z.g. plaatmethode, waarbij petrischalen van 10 cm ø werden gebruikt. De deksels hiervan werden aan de binnenzijde bevloeid met een acetonische oplossing. Gedurende 10 minuten bleven de schalen open, teneinde de aceton te laten verdampen. Daarna werden zij gesloten en voorzien van 10 vliegen per schaal. Gewoonlijk werden

7 concentraties per regressielijn verwerkt, elk met ten minste 3 herhalingen. Zoals gebruikelijk werden in deze toets vliegen van 3-5 dagen oud gebruikt.

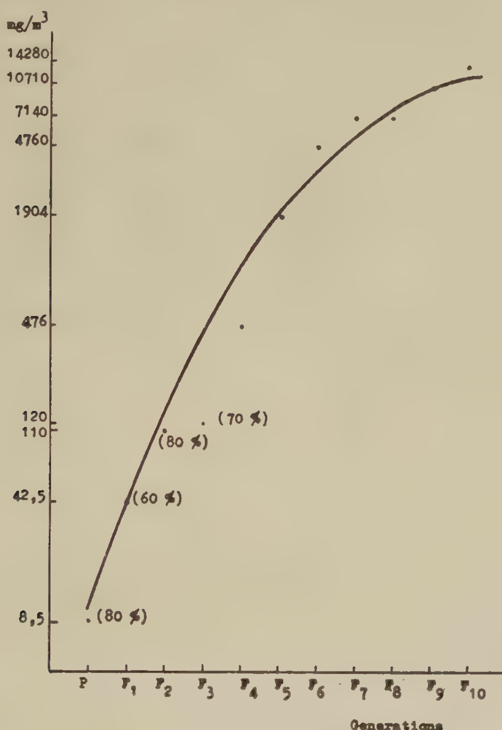


Fig. 1. — Concentraties van de nevel in de kweekkast om in de successievelijke generaties van de stam RL ongeveer 90% sterfte te verkrijgen.

Fig. 1. — Concentrations used in the space spray in the breeding cage in order to obtain by the successive generations of the strain RL about 90% kill.

Bij snelwerkende insecticiden, zoals lindaan, is het eindresultaat met gevoelige vliegen reeds na 4 uur zichtbaar. Resistente stammen geven na 4 uur vaak in het geheel geen effect te zien. In de grafieken zijn dan ook alleen de resultaten van 20-21 uur continu contact opgegeven.

3. Lindaan-resistente stam (RL)

A. Opbouw van de resistentie tegen lindaan

Zoals fig. 2 aantoont, begint de opbouw van de resistentie onmiddellijk bij de aanvang der selectie. Tot de 32e generatie werd geselecteerd door een ruimtebehandeling in de kweekkast. De

behandeling van de voedingsbodem der larven is niet consequent geschied; na de 4e generatie is de behandeling gestaakt vanwege het risico de stam al te zeer te verzwakken. Eerst toen de sterfte bij de 12e generatie daalde, werd de voedingsbodem van de 13e en 14e generatie weer behandeld; daarna werd het risico te groot geacht.

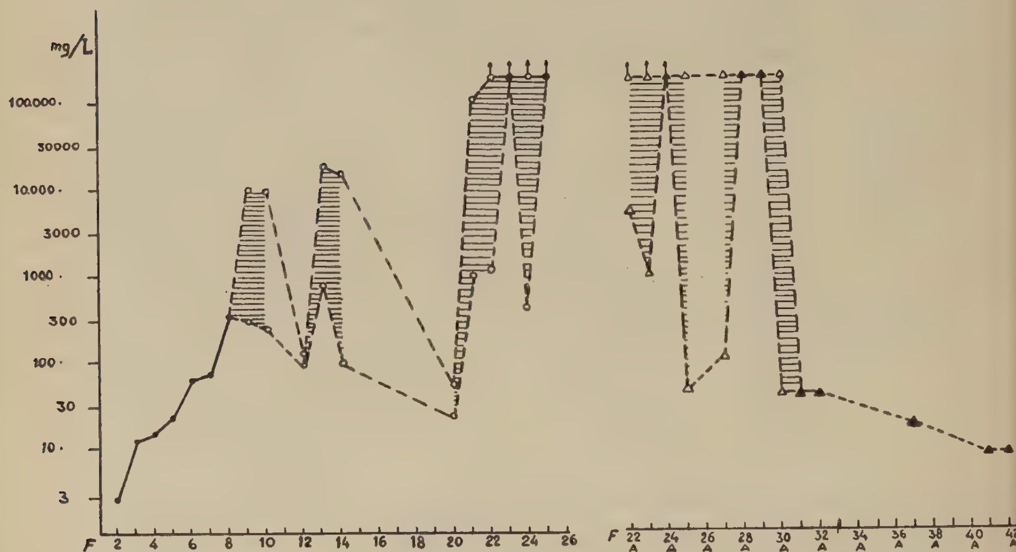


Fig. 2. — LC 50 van lindaan in de opeenvolgende generaties van de stam RL. F22A—F42A : generaties van de onderstam, welke niet meer met lindaan in aanraking kwam.

Fig. 2. — LC 50 of lindane during the successive generations of the strain RL. F22A—F42A : generations of the substrain which have been bred without further contact with lindane.

Van F_{33} af werden geen bespuitingen in de kweekkast uitgevoerd; voor de selectie werd sindsdien gebruik gemaakt van glazen potten van ± 3 l. inhoud. De oppervlakte (946 cm^2) werd behandeld door bevloeiing met een acetonische oplossing. Door de pot gedurende de verdamping van de aceton voortdurend te draaien werd een vrij gelijkmatige verdeling over het oppervlak verkregen. Met deze methode werden meerdere monsters van elke generatie behandeld. De dosis werd opgevoerd van 860 mg/m^2 bij de F_{33} tot 40.000 mg/m^2 in de F_{41}. Daarbij was het opvallend, dat de eerste vliegen van elke generatie gevoeliger waren dan de vliegen welke later uitkwamen. In dit verband is het nuttig te wijzen op de publicatie van Pimentel, Dewey & Schwardt (1951), waarin beschreven wordt, dat de lengte van de ontwikkelingsduur correleert met de resistentie van de door hen onderzochte stammen. Tegenover de waarnemingen

van Pimentel & Al. staat de publicatie van Babers, Pratt & Williams (1953), die geen verschillen in levensvatbaarheid der eieren en ontwikkelingsduur tussen gevoelige en resistente stammen vonden. Varzanden, Bruce & Decker (1954) vonden tussen 3 gevoelige stammen en 4 resistente stammen wel allerlei verschillen in eiproductie, ei- en larvensterfte, popgewicht en levensduur der imagines. Er was evenwel geen correlatie met resistentie. Gagliani (1952) vond eveneens verschillen die geen correlatie tussen de ontwikkelingsduur en de resistentie vertoonden.

Wellicht zijn deze tegenstrijdigheden te verklaren uit verschillende kweek-, resp. selectiemethoden. Indien men bij de kweek (of selectie) uitgaat van de totale populatie kan men andere resultaten verkrijgen dan wanneer men alleen de eerst uitgekomen vliegen gebruikt. Van grote betekenis is dan ook de publicatie van McKenzie & Hoskins (1954), waarin aangetoond wordt, dat door selectie van vroege en late poppen zonder behandeling met DDT resp. een gevoelige en een DDT-resistente stam ontwikkeld kan worden.

In fig. 2 is de LC 50 der generaties vastgelegd. Tot en met de 8e generatie bleken de monsters vrij homogeen en konden de regressielijnen redelijk goed worden geconstrueerd. Van de 9e generatie af trad een zo grote heterogeniteit op, dat het onmogelijk was een regressielijn te trekken. Het gearceerde traject geeft aan de grenzen, waarbinnen ongeveer 50% sterfte werd waargenomen.

Daar de LC 50 voor de gevoelige laboratoriumstam 0,75 mg/l bedraagt is de LC 50 in de 8e generatie tot het 400-voudige gestegen. Daarna is een duidelijke lijn niet meer aanwezig; in de 9e generatie waren groepen met een LC 50 van 300 mg/l, maar ook zulke met een LC 50 van 10.000 mg/l. Het maximum werd ongeveer bij de 20e generatie bereikt. Vele monsters verdroegen een dosis van 100.000 mg/l zonder belangrijke sterfte.

De 21e generatie werd gesplitst in een deel, dat verder geselecteerd werd en een deel, dat niet meer met lindaan in aanraking kwam. Binnen 9 generaties viel de resistentie van deze tweede groep aanzienlijk terug; de LC 50 bedroeg toen 30 mg/l (F_{33}). In dit stadium was ook de heterogeniteit sterk verminderd. Deze is nog wel aanwezig wanneer wij de sterftepercentages bij de hogere doses bezien.

B. Gedrag van RL tegen andere insecticiden

Van de 10e generatie af werd de gevoeligheid van de stam voor andere insecticiden onderzocht. Daarbij bleek, dat de resistentie voor andere gechloreerde insecticiden eveneens zeer groot was. Speciaal voor toxapheen, dieldrin en DDT was de resistentie

hoog (zie tabel 1). Uit de literatuur kan worden afgeleid, dat een geringe resistentie tegen andere gechloreerde insecticiden te verwachten is, speciaal tegen die van de z.g. HCH-groep. De resistentie is tegen alle verwachting in echter practisch even hoog of hoger. Nog merkwaardiger is, dat ook tegen DDT, dat chemisch en ook physiologisch tot een geheel andere groep behoort, de resistentie zeer hoog is. Van een specifieke resistentie is dus geen sprake. Tegen de niet-gechloreerde insecticiden „Diazinon"[1] en S 17 is de resistentie veel geringer.

TABEL 1 — TABLE 1

LC 50 en LC 95 van enkele insecticiden voor de gevoelige laboratoriumstam (L) en voor de lindaanresistente stam (RL)

LC 50 and LC 95 of some insecticides for the susceptible laboratory strain (L) and for the lindane-resistant strain (RL)

Verbinding *Compound*	LC 50 (mg/l)		LC 95 (mg/l)		Generatie *Generation*
	L	RL	L	RL	
Lindane	0,75	300	2,25	>100.000	F_8
		>100.000		>100.000	F_{23}
Toxaphene	80	>100.000	3000	>100.000	F_{10}
		>100.000		>100.000	F_{43}
Chlordane	6,7	19.000	33	>100.000	F_{16}
Aldrin	0,5	5.500	6,1	100.000	F_{15}
		30.000		>100.000	F_{39}
Dieldrin	1,3	>100.000	22,2	>100.000	F_{14}
		>100.000		>100.000	F_{43}
DDT	250	>100.000	1800	>100.000	F_{14}
„Diazinone"	0,5	1,8	1,3	5,2	F_{16}
		3,5		10	F_{41}
S 17*	250	300	500	800	F_{15}

(*) N,N-dimethyl phenylcarbaminaat

4. DDT-resistente stam (RD)

A. Opbouw van de resistentie tegen DDT

Bij de aanvang der selectie werd met 8,5 mg DDT/m³ 100% sterfte verkregen. Het residu van deze dosis op de wanden veroorzaakte 98% sterfte bij een volgende groep van gevoelige vliegen. Daar DDT een lange werkingsduur heeft, en voor de selectie telkens dezelfde kast werd gebruikt, is de daarna vrijwel constant gebruikte dosis van 8,5 g DDT/m³ geen maatstaf voor de doses, waaraan de vliegen in werkelijkheid blootstonden.

1) Merkzaam van Geigy A.G, Basel voor o,o-diethyl-4-methyl-pyrimidyl-6)-thiofosfaat.

De eerste dochtersgeneratie gaf 88% sterfte en daarna volgde een geleidelijke afname van de mortaliteit. Na de 16e generatie was deze nooit hoger dan 40%.

Van de 23e generatie af vond de selectie plaats door de vliegen bloot te stellen aan een droog DDT-residu in een glazen pot, waarbij de dosis opgevoerd werd van 0,4 g in de F_{23} tot 10 g DDT/m² in de F_{31}. In het algemeen bleken ook hier de eerste vliegen van elke generatie aanzienlijk minder resistent te zijn dan de later uitgekomen vliegen.

Van F_{23} af werd de voedingsbodem der larven behandeld met 250 mg DDT/kg; bij F_{25} en F_{26} met 500 mg/kg. Daarna werd het weer nagelaten, omdat de productiviteit en de levensvatbaarheid van de stam te gering waren geworden.

Bij de bepaling van de LC 50 bleek de F_1 reeds 12 × en de F_2 400 × zo resistent te zijn als de gevoelige stam. Bij de volgende generaties kon geen LC 50 meer worden bepaald, aangezien deze blijkbaar ver boven 100.000 mg/l lag en bij deze dosis het glas met een dikke laag kristallen is bedekt (zie fig. 3).

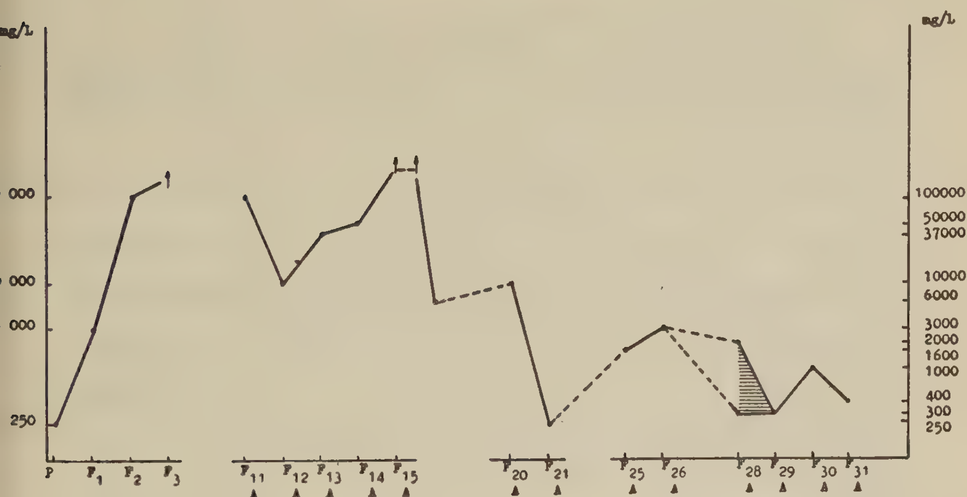


Fig. 3. — LC 50 van DDT in de opeenvolgende generaties van de stam RD. F11A-F31A : onderstam welke van de 10e generatie af niet meer met DDT in aanraking is geweest.

Fig. 3. — LC 50 of DDT during successive generations of the strain RD. F11A—F31A : substrain which have not been in contact with DDT from the 10th generation on.

Nadat van de F_9 een stam RD/A was afgespitst om zonder contact met DDT verder te kweken, bleek de resistentie weer af te nemen. De generaties F_{11}–F_{16} vertoonden een wisselende LC 50 tussen 10.000 en 100.000 mg/l. Bij F 21, dus na 11 generaties, bleek

de gevoeligheid voor DDT op een veel lager niveau te zijn gekomen; de LC 50 schommelt hier tussen 250 mg/l en 3.000 mg/l.

Met de ons ter beschikking staande methodiek is niet uit te maken of deze verschillende waarden toegeschreven moeten worden aan de bemonstering, of aan de selectie. Waarschijnlijk spelen beide factoren een rol. Zo geven de twee bepalingen van de LC 50 bij F_{30} op twee achtereenvolgende dagen dezelfde waarde, terwijl de twee waarden van F_{28}, sterk uiteenlopen. Misschien verschillen de monsters vliegen in gevoeligheid al naar gelang hun ontwikkelingsduur langer of korter is. Wij hebben de tendens voor een dergelijke correlatie reeds bij de bespreking van de selectie genoemd, maar helaas hebben wij deze factor niet onderzocht. Zo is het mogelijk, dat ook tijdens de selectie onregelmatigheden optreden tengevolge van het feit, dat bij sommige generaties de eerste vliegen (korte intwikkelingsduur) een andere keer later uitgekomen vliegen (lange ontwikkelingsduur) gebruikt zijn. Mogelijk is dit ook een verklaring voor het feit, dat bij een vroeger afgesplitste stam uit RD binnen drie generaties de resistentie tot nihil terug liep, waarbij de gevoeligheid zich gedurende de daarop volgende generaties handhaafde.

B. Gedrag van RD tegen andere insecticiden

Zoals uit tabel 2 blijkt, is de stam RD niet alleen resistent tegen DDT, maar ook zeer resistent tegen alle andere gechloreerde

TABEL 2 — TABLE 2

LC 50 en LC 95 (mg/l) van enige insecticiden voor de gevoelige laboratoriumstam (L) en de DDT-resistente stam (RD)

LC 50 and LC 95 (mg/l) of some insecticides for the susceptible laboratory strain (L) and the DDT-resistant strain (RD)

Verbinding *Compound*	LC 50 (mg/l)		LC 95 (mg/l)		Generatie *Generation*
	L	RD	L	RD	
DDT	250	>100.000	1800	>100.000	F_{11}
Lindane	0,75	3,7	2,25	100	F_4
Toxaphene	80	100.000	3000	>100.000	F_5
		>100.000		>100.000	F_{30}
Chlordane	6,7	150	33	>100.000	F_5
		10.000		>100.000	F_{31}
Aldrin	0,5	25	6,1	3.000	F_4
		6.400		>100.000	F_{30}
Dieldrin	1,3	165	22,2	10.000	F_5
		1.000		100.000	F_6
		>100.000		>100.000	F_{30}
„Diazinone"	0,5	0,6	1,3	1,7	F_5
S 17	250	200	500	400	F_4

insecticiden. Terwijl de 4e en 5e generatie reeds zeer resistent waren, is de resistentie daarna nog sterk toegenomen. Onder de gechloreerde insecticiden is lindaan nog het meest effectief op RD.

Tegen ,,Diazinon'' heeft de F_4 nauwelijks enige resistentie ontwikkeld, terwijl voor S 17 de gevoeligheid iets is toegenomen.

In grote lijnen kunnen wij zeggen, dat evenals bij de RL-stam, de resistentie algemeen is tegen de gechloreerde insecticiden, maar dat de resistentie tegen ,,Diazinon'' en S 17 gering is of ontbreekt.

5. S 17-resistente stam (RS)

A. Gevoeligheid (LC_{50}) der generaties van RS voor S 17

In de inleiding werd reeds vermeld, dat deze stam ontwikkeld werd uit de stam G, terwijl alle andere resistente stammen geselecteerd werden uit de stam L. De stam G vond zijn ontstaan in een wilde populatie; de poppen van de F_1 van deze populatie werden afgezonderd en daarna werden één mannetje en één wijfje bij elkaar gebracht. De nakomelingen van dit ene ouderpaar vormen dus de stam G.

Opvallend is, dat tot de 5e generatie de dosis aanmerkelijk verhoogd moest worden van 2,9-21,5 g S 17/m³ om ongeveer 90% sterfte te verkrijgen, maar dat daarna nauwelijks van een toename van de resistentie gesproken kon worden tot de generaties F_{12} en F_{13}. Hier heeft de resistentie een onverklaarbare top gekregen, waarna de dosis weer verlaagd moest worden om niet het risico te lopen de stam te verliezen. Na de daling van het sterftepercentage werd de dosis om dezelfde reden niet verhoogd. daar de vitaliteit van de stam aanzienlijk verminderd was. Met name uitte dit zich in een geringe eiproductie en een hoge contrôle sterfte. Daarom werd de behandeling van de voedingsbodem ook reeds spoedig gestaakt. Uit de onregelmatige sterfte bij gelijke doses blijkt ook wel de heterogeniteit van de stam, hoewel wij — in tegenstelling met de reeds besproken stammen RL en RD — geen duidelijke correlatie vonden tussen de ontwikkelingsduur en de resistentie.

Vanwege de vluchtigheid van S 17 is de proeffout bij de bepaling van de LC 50 met de plaatmethode relatief groot. Door het grote aantal bepalingen is de waarde voor de laboratoriumstam wel betrouwbaar vast te stellen op 200 à 250 mg/l. In figuur 6 zien wij, dat de LC 50 tot de 4e generatie voor RS ongeveer gelijk is aan die voor de laboratoriumstam. Van de 5e generatie af schommelt de LC 50 met enige onregelmatigheden om de 300 mg/l.

De toename van de resistentie in de 5e generatie is in overeenstemming met de ervaring bij de selectie. De onregelmatigheden

welke in de 9e, 12e, 25e en 26e generatie optreden, kunnen niet verklaard worden uit proeffouten; ze moeten waarschijnlijk gezocht worden in de heterogeniteit binnen de generatie, waardoor een representatief monster moeilijk te verkrijgen is. M.a.w. in de populatie komen resistente individuën naast minder resistente voor. In tegenstelling met de vorige stammen is de resistentie evenwel nooit zodanig, dat de LC 95 (en zelfs niet de LC 100) onevenredig meer verhoogd is dan de LC 50. Een grote moeilijkheid is evenwel, dat de vitaliteit van de stam RS zó verminderd is, dat de contrôle-sterfte vaak zeer groot is.

Van de 22e generatie af werd een populatie van deze stam zonder verder contact met S 17 verder gekweekt. Zoals in figuur 4 te zien is, liep de resistentie tegen S 17 na 21 generaties niet terug en bleef de LC 50 omstreeks 300 mg/l.

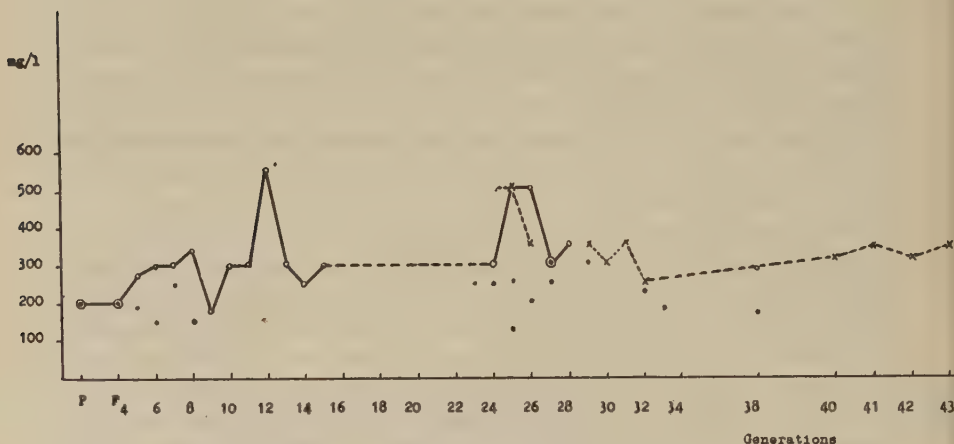


Fig. 4. — ● LC 50 van S 17 voor de gewone laboratoriumstam
○ LC 50 van S 17 voor de stam RS
× LC 50 van S 17 voor de onderstam van RS, welke na F 23 zonder verder contact met S 17 werd gekweekt.

Fig. 4. — ● LC 50 of S 17 of the normal laboratory strain
○ LC 50 of S 17 of the strain RS
× LC 50 of the substrain of RS which from the 22nd generation on have been bred without further contact with S 17.

B. Gedrag van RS tegen andere insecticiden

Van de 14e generatie af werd de stam RS getoetst op zijn gevoeligheid voor andere insecticiden. In tabel 3 zijn de resultaten hiervan samengevat. Het is verrassend, dat ondanks de geringe resistentie tegen S 17 er een aanzienlijke resistentie bestaat tegen de andere insecticiden. Het geringste is de resistentie tegen ,,Diazinon" (6–7 ×) en tegen DDT. De LC 50 voor DDT is zelfs geringer dan bij de laboratoriumstam, hetgeen des te verwonderlijker is, omdat de LC 95 15 × zo hoog ligt.

TABEL 3 — TABLE 3

LC 50 en LC 95 van enkele insecticiden voor de S 17-resistente stam (RS) en voor de gevoelige laboratoriumstam (L)

LC 50 and LC 95 of some insecticides for the S 17-resistant strain (RS) and for the susceptible laboratory strain (L)

Verbinding *Compound*	LC 50 (mg/l)		LC 95 (mg/l)		Generatie *Generation*
	L	RS	L	RS	
S 17	250	300	500	800	F_{13}
Lindane	0,75	10	2,25	60	F_{15}
		20		270	F_{39}
Toxaphene	80	>100.000	3000	>100.000	F_{16}
Chlordane	6,7	190	33	2.320	F_{14}
Aldrin	0,5	300	6,1	100.000	F_{20}
		450		61.000	F_{40}
Dieldrin	1,3	> 30.000	22,2	> 30.000	F_{19}
DDT	250	150	1800	27.000	F_{16}
„Diazinone"	0,5	3,0	1,3	9,0	F_{22}

De onderstam, welke van de 23e generatie af niet meer in contact kwam met S 17 behield gedurende meer dan 25 generaties zijn resistentie tegen S 17, DDT, toxapheen, dieldrin en chlordaan. Na 20-25 generaties daalden de LC 50 en de LC 95 tot resp. 9 en 50 mg/l voor lindaan; 25 en 3.000 mg/l voor aldrin; 0,7 en 2,1 mg/l voor „Diazinon".

6. Fosforester-resistente stam (RP)

A. Opbouw van de resistentie tegen „Diazinon"

De RP-stam werd geselecteerd met Diazinon vanwege de geringe acute giftigheid van deze stof voor de mens. Een merkwaardige eigenschap van deze stof is, dat naast de onmiddellijke werking er nog een nawerking bestaat, die wij niet zo sterk bij andere insecticiden hebben gevonden. Men kan b.v. na 24 uur een sterfte van 60% constateren en dan twee dagen later bemerken, dat de overige 40% eveneens gedood zijn. Dit is voor de selectie een moeilijke factor. Bovendien wordt de eiproductie door deze nawerking slecht beïnvloed, waardoor afgezien is van de behandeling van de voedingsbodem der larven. De opbouw van de resistentie verloopt slechts zeer langzaam.

De opbouw van de resistentie begint onmiddellijk na de aanvang van de selectie; de F_1 is bijna 2 × zo resistent als de P. Gedurende de eerste tot de derde dochtergeneratie blijft de gevoeligheid constant om daarna — behoudens een uitzonderlijk

hoge resistentie in de 5e generatie — geleidelijk toe te nemen tot de 11e generatie. Na de 12e generatie vindt weer een lichte daling plaats. Deze schoksgewijs optredende veranderingen (toppen en dalen in de grafiek van fig. 5) zijn onverklaarbaar.

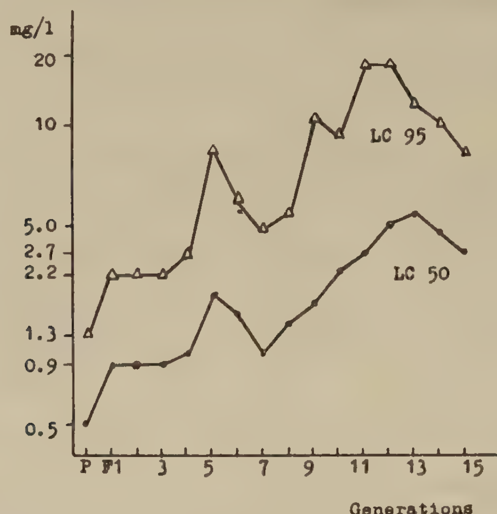


Fig. 5. — LC 50 en LC 95 van ,,Diazinon" in de opeenvolgende generaties van de stam RP.

Fig. 5. — LC 50 and LC 95 of ,,Diazinone" during the successive generations of the strain RP.

Na de 15e generatie hebben wij helaas weinig bepalingen verricht. De F_{24} en F_{25} vertoonden een LC 50 van 4 mg/l en een LC 95 van 12 mg/l; de resistentie tegen ,,Diazinon" is dus ongeveer op hetzelfde peil gebleven als van de 13e generatie.

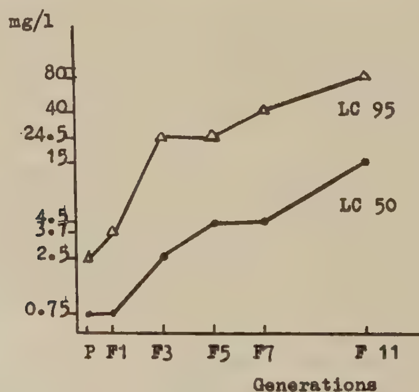


Fig. 6. — LC 50 en LC 95 van lindaan in de opeenvolgende generaties van de stam RP.

Fig. 6. — LC 50 and LC 95 of lindane during the successive generations of the strain RP.

B. Gevoeligheid van RP voor andere insecticiden

Aangezien wij bij de hiervoor besproken stammen de ervaring hebben opgedaan, dat deze ook resistent waren tegen insecticiden die niet bij de selectie waren gebruikt, besloten wij bij de stam RP zoveel mogelijk de achtereenvolgende generaties van het begin af te toetsen op hun gevoeligheid voor de andere insecticiden.

Zoals uit fig. 6 blijkt begint ook de resistentie tegen lindaan onmiddellijk en stijgt verder geleidelijk aan. Bij de generatie F_{22} bedroeg de LC 50 25 mg/l en de LC 95 150 mg/l.

Ook bij toxapheen stijgt de resistentie zodra de selectie met „Diazinon" begint (fig. 7). Bij de elfde generatie is de LC 50 reeds niet meer te bepalen.

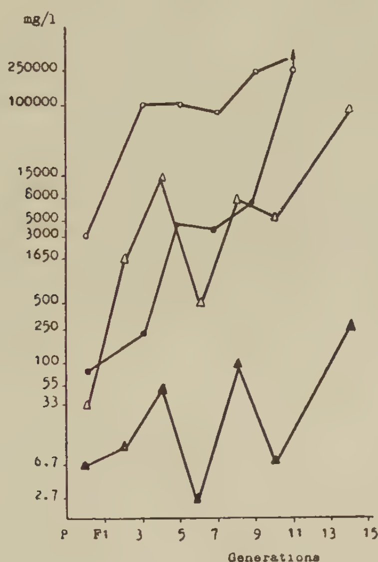


Fig. 7. — Gevoeligheid der generaties van RP voor toxapheen en chlordaan.

Fig. 7. — Susceptibility of the generations of RP to toxaphene and chlordane.

Chlordaan verliest eveneens aan effectiviteit (fig. 7). Voor de onregelmatigheden in de grafiek hebben wij helaas geen verklaring. Bij aldrin zien wij een sterke stijging van de resistentie tot de 4e generatie, om daarna weer enigszins af te nemen (fig. 8).

Het verloop van de gevoeligheid tegen dieldrin is onregelmatig (fig. 8) maar geeft globaal toch een duidelijke toename van de resistentie te zien. De LC 50 van DDT blijkt te variëren

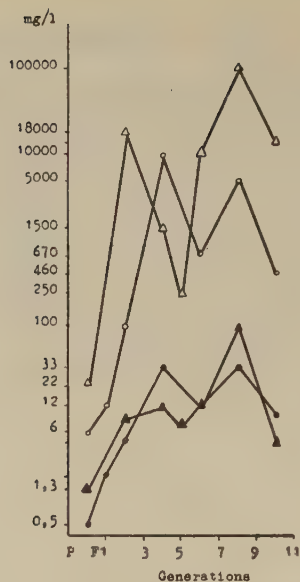


Fig. 8. — Gevoeligheid der generaties van RP voor aldrin en dieldrin.

Fig. 8. — Susceptibility of the generations of RP to aldrin and dieldrin.

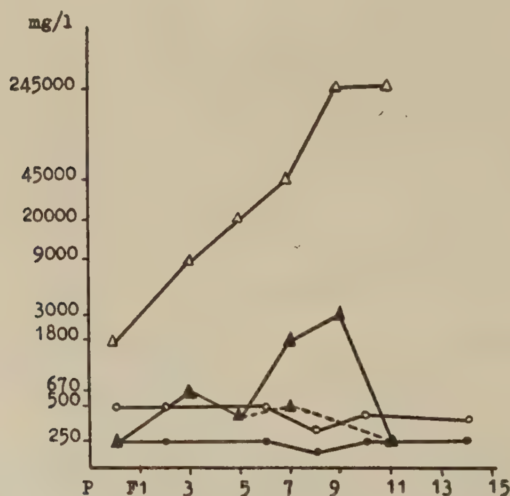


Fig. 9. — Gevoeligheid der generaties van RP voor DDT en S 17.

Fig. 9. — Susceptibility of the generations of RP to DDT and S 17.

tussen 250 en 3.000 mg/l (fig. 9); latere generaties geven een LC 50 van 1.000-3.000 mg/l te zien. Daarentegen vertoont de LC 95 een regelmatige stijging tot de 9^{e} generatie en blijft dan constant. Nog merkwaardiger is het feit, dat tegen S 17 in het geheel geen resistentie wordt opgebouwd (zie fig. 9).

7. Discussie

De opvatting, dat speciaal de gechloreerde insecticiden resistentie opwekken is, zo deze mening nog mocht heersen, door het voorgaande wel weerlegd. De vroegste meldingen van resistentie, al was dit niet bij vliegen, hadden trouwens betrekking op geheel andere stoffen, zoals zwavel, HCN en arsenaten (zie o.a. Babers 1949). Het ligt voor de hand, dat verbindingen, welke chemische verwantschap vertonen, ook overeenkomstige eigenschappen bij de opbouw van de resistentie zullen vertonen. Riemschneider (1954) en anderen onderscheiden bij de gechloreerde contactinsecticiden o.a. de DDT-groep, waartoe o.m. methoxychloor, dilan, dianisylneopentaan behoren, en de HCH-groep, waarbij toxapheen, aldrin, dieldrin en chlordaan gerekend worden.

Men zou nu verwachten, dat DDT-resistentie evt. gepaard zou kunnen gaan met resistentie tegen andere insecticiden van dezelfde groep, maar buiten deze groep de resistentie althans aanmerkelijk minder groot zou zijn. Dit blijkt in het geheel niet juist te zijn. Het komt zelfs regelmatig voor, dat tegen bepaalde insecticiden, welke bij de selectie niet gebruikt zijn een nog hogere resistentie kan bestaan dan tegen het selecterende middel zelf. Zo is de resistentie van RD tegen toxapeen hoger dan tegen DDT; RL is nog resistenter tegen dieldrin (en waarschijnlijk ook tegen DDT) dan tegen lindaan; RS is tegen alle andere insecticiden resistenter dan tegen S 17; RP is tegen alle andere insecticiden (behalve S 17) resistenter dan tegen „Diazinon".

Desondanks is het gedrag van RD en RL wel afwijkend van het gedrag van RP en RS. In de genoemde volgorde neemt trouwens de vitaliteit en de eiproductie af. Bij RS kan echter de sterkere inteelt een bijkomende factor hiervoor zijn, daar deze stam geselecteerd werd uit de stam G, welke ontwikkeld werd uit één ouderpaar. Voorts is het opvallend, dat zowel bij RS als bij RP de resistentie tegen de gechloreerde insecticiden groter is dan tegen S 17 en „Diazinon". Maar men kan dit ook zien als een gemeenschappelijke eigenschap van alle stammen om minder resistent te zijn tegen deze niet-gechloreerde insecticiden.

Wanneer wij S 17 buiten beschouwing laten, dan wekt het verwondering, dat onafhankelijk van het middel, dat bij de selectie

wordt gebruikt, alle stammen tegen alle getoetste insecticiden resistent worden. Dit is niet in overeenstemming te brengen met de theorie, dat de resistentie een gevolg zou zijn van de toename van een specifiek enzym, zoals bij de DDT-resistentie de DDT-dehydrochlorinase (Sternburg & Al. 1954, Perry & Hoskins 1951). Immers, DDT-dehydrochlorinase kan onmogelijk in staat geacht worden om lindaan e.a. insecticiden van een geheel ander type onschadelijk te maken.

Dat enzymatische mechanismen bij de resistentie een grote rol spelen is evenwel boven alle twijfel verheven. Sacktor (1950) vond in DDT-resistente vliegen 50% meer cytochroomoxydase-activiteit dan in gevoelige. Sacktor (1951) vond bij poppen van DDT-resistente vliegen weliswaar minder cytochroomoxydase, maar 2× zoveel HCN-ongevoelige oxydase. Dit is vooral van betekenis, omdat Johnston (1951) vond, dat succinoxydase en cytochroomoxydase van het rattenhart door DDT en DDE worden geremd. De betreffende enzymen behoeven dus niet specifiek te zijn voor de directe afbraak van het toxicum.

Busvine (1951) was de eerste auteur, die vermoedde dat aan de resistentie verschillende mechanismen ten grondslag moesten liggen. Dit leidde deze onderzoeker af uit het feit, dat een DDT-resistente stam uit Sardinië na behandeling met DDT wel knock-down vertoonde, maar zich hiervan herstelde, terwijl bij een resistente stam uit Rome ook geen knock-down-effect optrad. Bovendien waren de LD's 50 van DDT-analogen voor de eerste stam evenredig met de chemische dechloreringssnelheden *in vitro*; bij de tweede stam was dit niet het geval. Zeer interessant is ook, dat de DDT-resistente stammen van Busvine tevens resistent bleken te zijn tegen dianisylneopentaan, dat dezelfde ruimtelijke structuur heeft als methoxychloor, en hiervan alleen verschilt doordat de drie Cl-atomen vervangen zijn door CH_3-groepen. Deze resistentie is dus op generlei wijze te verklaren met een dehydrochloreringsmechanisme.

Er zijn evenwel geheel andere mechanismen, die niet in verband staan met de DDT-dehydrochlorinase. Zo vonden Roth & Lindquist (1953), dat bij 90° F 64% meer DDT werd opgenomen dan bij 70° F. De sterfte was evenwel omgekeerd evenredig aan de opgenomen hoeveelheid. Dit zou in verband gebracht kunnen worden met de oplosbaarheid van DDT in het lichaamsvet, waardoor bij hogere temperatuur minder DDT beschikbaar is om op de aangrijpingsplaatsen zijn werking uit te oefenen. Dit is dan ook in overeenstemming met de resultaten van Langenbuch (1954, 1955), waarbij bleek, dat de toxiciteit van DDT omgekeerd evenredig is met de oplosbaarheid van DDT in de gebruikte oliën. De resistentie van wijfjes van Musca do-

mestica ten opzichte van mannetjes en van larven van het 4e stadium van de coloradokever t.o.v. het 3e stadium verklaart Langenbuch dan ook door een hoger lipoïdgehalte van de haemolymphe, waardoor deze een groter oplossend vermogen voor DDT heeft.

In dit verband zijn de proeven van Mer & Furmanska (1953) en van Wiesmann (1955) zeer belangwekkend. Eerstgenoemde onderzoekers stelden vast, dat vliegen, welke vooraf gevoed werden met taptemelk + boter of arachisolie aanzienlijk resistenter waren tegen DDT dan vliegen welke alleen taptemelk kregen. Wiesmann vond, dat de lipoïden van DDT-resistente vliegen anderhalf maal meer DDT konden oplossen dan de lipoïden van gevoelige vliegen. Het gehalte aan onverzadigde vetzuren bleek bij resistente vliegen ook veel hoger te zijn dan bij gevoelige.

Nog een geheel ander verschijnsel bij resistente vliegen is de verlaging van de gevoeligheid van de ganglia. Pratt & Babers (1953) vonden, dat de blootgelegde thoracale ganglia van resistente vliegen minder reageerden op het bestrijken met DDT-emulsie dan gevoelige vliegen. Wiesmann (1955) stelde vast, dat het cholesterol-gehalte van hersenen, zenuwstreng en vliegspieren bij resistente vliegen 2-3 × zo hoog is als bij gevoelige. Daar cholesterol een essentieel bestanddeel is van de celmembranen, zal de permeabiliteit daarvan door een wijziging in het cholesterol-gehalte mogelijk een verandering ondergaan. Bovendien vond deze onderzoeker, dat bij kleuring met vitale kleurstoffen zoals neutraalrood, Visbagroen en methyleenblauw het protoplasma van de epidermiscellen bij gevoelige vliegen intensief, bij resistente vliegen zwak of niet gekleurd werd. Wiesmann leidt daaruit af, dat de permeabiliteit van deze cellen inderdaad verlaagd is.

Door de verscheidenheid van mechanismen, die wij thans reeds onderkennen, wordt het aannemelijker dat een specifieke enzymatische afbraak niet de enige en waarschijnlijk ook niet de voornaamste oorzaak van de resistentie kan zijn. Reeds het feit, dat resistente vliegen — ondanks afbraak — een veelvoud aan DDT kunnen bevatten van een voor gevoelige vliegen lethale dosis is daarmee in strijd.

Dat tegen S 17 zo weinig resistentie opgebouwd wordt, is verrassend, hoewel het feit, dat er toch een geringe resistentie optreedt een aanwijzing zou kunnen zijn voor een niet-specifiek mechanisme. Ook tegen parathion schijnt de opbouw van resistentie moeilijk te gaan, hoewel door Pimentel & al. (1953) een resistentie-factor van ± 10 gevonden werd met betrekking tot de KD 50 (*). Belangrijk is daarbij, dat ook de met lindaan en

(*) dosis waarbij 50% „knock-down” wordt verkregen.

met DDT geselecteerde stammen dezelfde resistentie tegen parathion vertoonden, zodat ook hier de resistentie moeilijk aan een specifiek enzym toegeschreven kan worden.

Des te merkwaardiger is, dat tegen S 17 geen resistentie van betekenis opgewekt kan worden. Nu is S 17 verwant aan de urethanen, waarvan de narcotische werking bekend is. Daar deze narcotica de eigenschap bezitten geadsorbeerd te worden aan eiwitoppervlakken is het niet onwaarschijnlijk dat ook S 17 deze eigenschap bezit.

Proeven over de werking van phenylcarbaminaten op de cholinesterase van kakkerlakken toonden aan, dat deze stoffen de cholinesterase-activiteit sterk beïnvloeden (*). Nadat kakkerlakken enige tijd in contact waren geweest met deze stoffen, bleek het zenuwstelsel van deze dieren een sterk verhoogde cholinesterase-activiteit te bezitten. Na langere inwerkingsduur ging deze activering over in een remming. De verklaring hiervan is nog niet te geven, maar één hypothese is, dat *in vivo* de cholinesterase van het eiwitoppervlak wordt verdrongen, waardoor veel meer actieve cholinesterase-moleculen ter beschikking komen dan normaal.

Indien de hypothese, dat de werking van S 17 ten dele berust op de eigenschap om in sterke mate aan eiwitoppervlakken geadsorbeerd te worden juist is, dan zou misschien ook het penetrerend vermogen van S 17 groot kunnen zijn. Een sterke aanwijzing voor dit laatste is het feit, dat S 17 bij contactproeven in Petrischalen reeds zeer snel vergiftigingssymptomen teweegbrengt. Deze eigenschappen zouden kunnen verklaren, waarom de resistentie tegen S 17 zo moeilijk opgebouwd kan worden, ook al zouden bepaalde enzym-activiteiten verhoogd zijn. Tevens zou de geringe resistentie die optreedt eerder geweten moeten worden aan een verlaagde permeabiliteit, en daarmee zou dan ook de hoge graad van resistentie van de stam RS tegen de andere insecticiden verklaard zijn. Gezien de multiresistentie, welke ook bij de andere stammen werd geconstateerd, lijkt het dan tenslotte waarschijnlijker, dat deze meer het gevolg is van een verlaagde permeabiliteit, dan van de tegelijkertijd verhoogde activiteit van bepaalde enzymsystemen.

Dankbetuiging

Voor het critisch doorlezen van het manuscript betuig ik hierbij aan Prof. Dr. J. de Wilde te Wageningen mijn oprechte dank. Zijn opmerkingen zijn voor dit verslag van grote waarde geweest.

(*) Walop, Meltzer & Jaeger-Draafsel 1956.

SAMENVATTING

1. Uitgaande van een gevoelige laboratoriumstam werden door selectie met lindaan, DDT, phenyl-N, N-dimethyl-carbaminaat en ,,Diazinon'' vier resistente stammen geselecteerd.

2. Tegen lindaan en DDT werd een zeer hoge mate van resistentie verkregen, welke met de gebruikte contact-methode niet meer meetbaar was. Met ,,Diazinon'' werd ongeveer een resistentiefactor 10 verkregen; met phenyl-N,N-dimethyl-carbaminaat slechts een factor 1½.

3. Alle stammen bleken tegen alle gechloreerde insecticiden zeer resistent te zijn. Tegen ,,Diazinon'' bleek de resistentie van de stammen veel geringer, tegen phenyl-N,N-dimethyl-carbaminaat practisch niet (factor 1½) aanwezig.

4. Multiresistentie blijkt niet slechts na selectie met een combinatie van insecticiden op te treden, en ook niet eerst na het bereiken van een hoge resistentiegraad tegen het selecterende toxicum, maar reeds van de aanvang van de selectie af opgebouwd te worden.

5. Daar specifieke resistentie bij vliegen wel zeer onwaarschijnlijk is, kan de resistentie dus niet alleen het gevolg zijn van een specifiek afbraakmechanisme, zoals de afbraak van DDT door DDT-dehydrochlorinase.

6. Verondersteld wordt, dat de verlaging van de permeabiliteit van celoppervlakken een grotere rol speelt in het mechanisme van de resistentie dan de verhoging van enzym-activiteiten. De afweerreactie wordt door de verlaging van de permeabiliteit aspecifiek en heeft dan ook een meer universele resistentie tot gevolg.

7. Dat tegen phenyl-N,N-dimethyl-carbaminaat slechts een zeer geringe resistentie kan worden opgebouwd zou verklaard kunnen worden door de oppervlakte-actieve werking, die deze stof waarschijnlijk met de narcotica gemeen heeft. Een mogelijke aanwijzing vormt de toename van de cholinesterase-activiteit van het zenuwstelsel van kakkerlakken, welke gemeten wordt na de toediening van deze stof als contactgif.

SUMMARY

Multiresistance in the housefly, *Musca domestica* L. induced by selection with insecticides

1. Introduction

Four resistant strains have been developed out of the normal laboratory strain (L), viz. a DDT-resistant strain (RD), a lindane-resistant strain (RL), a ,,Diazinone"-resistant strain (RP) and a strain (RS) selected with phenyl-N,N-dimethylcarbaminate, designated as S 17.

2. Methods

Selection have been carried out by treating 200-400 flies of the consecutive generations with a space spray in a breeding cage. The increase of the concentration by selecting for lindane-resistance is shown in fig. 1. Afterwards this method had to be abandonned and have been replaced by a surface treatment in glass jars.

The sensitiveness of the consecutive generations for the selecting insecticide have been determined by using the Petridish method by treating the inner surface of the lid only.

3. Lindane-resistant strain (RL)

Fig. 2 shows the building up of resistance during the successive generations. The heterogenity of some generations is expressed by the hatched range of the dosage in which about 50% kill have been observed. The part on the right side of the figure shows the decrease of resistance, after the treatments with lindane have ceased.

From table 1 it becomes obvious that this strain is highly resistant against all chlorinated insecticides, less so against ,,Diazinone", and practically not against S 17.

4. DDT-resistant strain (RD)

As is shown in fig. 3 the resistance against DDT has reached such hich a level after three generations of selection that the rate is no more measurable. About ten generations after the selection with DDT have been ceased the resistance is considerably decreased.

The DDT-resistant strain is also highly resistant against toxaphene, chlordane, aldrin and dieldrin, less resistant against lindane, and practically not against ,,Diazinone" and S 17 (table 2).

5. S 17-resistant strain (RS)

After 5 generations of selection a slight resistance is obtained against S 17 (fig. 4). After stopping the selection this resistance was not lost within twenty generations.

Curiously this strain appeared to be highly resistant against the chlorinated insecticides and less so against ,,Diazinone'' (table 3).

6. ,,Diazinone''-resistant strain (RP)

The sensitivity of each generation has been determined for all the insecticides used. The results are summarized in the graphs of fig. 5-9. Against all insecticides tested the resistance is developing immediately after the beginning of the selection, with the exception of S 17.

7. Discussion

Specificity in resistance does not occur, and so it seems unlikely that a specific detoxifying enzyme like DDT-dehydrochlorinase (Sternburg & Al. 1954) could be the principal cause of resistance. Increase of several enzyme activities, however, have been stated by several authors (Sacktor 1951 o.a.), but moreover there are other mechanisms of resistance which need not to be directly connected with increased enzyme activity.

DDT-resistant flies appear to contain a larger amount of unsaturated fatty acids than susceptible ones (Wiesmann 1955). So the resistant flies are capable of solving more DDT in the haemolymph and may in this manner protect the sites of action against DDT.

The thoracial ganglia of DDT-resistant flies appear to be considerably less sensitive to DDT than those of susceptible flies (Pratt & Babers 1953). The reduced reaction of the ganglia may be caused by a decrease of the permeability. Wiesmann (1955) found in the nerve tissues of resistant flies 2-3 times as much cholesterol as in normal flies. Besides it appeared that the protoplasm of epidermal cells can be intensively stained with vital dyes whereas in the resistant flies these cells stain hardly or not. These facts indicate indeed that the permeability of the cells may be lowered. The diversity of mechanisms renders it likely that the specific enzymatic detoxification is not the only and probably also not the principal cause of resistance.

The fact that all strains are developing resistance against all known insecticides, whatsoever the selecting insecticide may be, tends to an aspecific mechanism. Nevertheless S 17 is capable of killing resistant flies and against this compound no resistance of any importance could be obtained. S 17 is related to the ure-

thanes which are known as narcotics, and therefore it is assumed that it may share with them the property to be adsorbed to protein membranes.

Experiments with phenylcarbaminates on nerve tissue of roaches have shown that these compounds are activating the cholinesterase-activity (Walop, Meltzer & Jaeger-Draafsel 1956). One of the hypotheses is that *in vivo* the cholinesterase is expelled from the protein-surface, in consequence of which a high activity of the solved enzyme can be measured with the Warburg manometer.

This hypothesis could explain why resistance against S 17 must be low, even when certain enzyme activities should be increased. At the same time the slight resistance observed could rather be imputed to reduced permeability, and as a consequence the high resistance of the strain RS against other insecticides would be explained. The multiresistance which was also established for the other strains are more likely the result of decreased permeability than of increase of activity of certain enzyme systems which of course may occur at the same time.

ANDERSON, A. D., MARCH, R. B. & METCALF, R. L. — Inhibition of the succinoxidase system of susceptible and resistant house flies by DDT and related compounds. *Ann. Ent. Soc. Am.*, **47** (1955), pp. 595-602.

BABERS, F. H. and PRATT, J. J. — Resistance of insects to insecticides : the metabolism of injected DDT. *J. Econ. Ent.* **46** (1953), pp. 977-982.

BABERS, F. H., PRATT, J. J. and WILLIAMS, M. — Some biological variations between strains of resistant and susceptible houseflies. *J. Econ. Ent.* **46** (1953), pp. 914-915.

BRUCE, W. N. & DECKER, C. G. — Housefly tolerance for insecticides. *Scap & San. Chem.* **26** (1950), pp. 122-125, 145-147.

BUSVINE, J. R. — Mechanism of resistance to insecticide in houseflies. *Nature* **168** (1951), pp. 193-195.

BUSVINE, J. R. — Forms of insecticide-resistance in houseflies and body lice. *Nature* **171** (1953), pp. 118-119.

GAGLIANI, M. — Duration of the larval cycle of Musca domestica, sensitive and resistant to DDT. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* **28** (1952), pp. 326-329.

JOHNSTON, C. D. — The *in vitro* effect of DDT and related compounds on the succinoxidase system of rat heart. *Arch. Biochem. & Biophys.* **31** (1951) pp. 375-382.

LANGENBUCH, R. — Zur Frage der Ursache für die Resistenz von Insekten gegenüber lipoidlöslichen Insektiziden. *Naturwissenschaften* **41** (1954), p. 70.

LANGENBUCH, R. — Untersuchungen über die Ursache der unterschiedlichen DDT-Empfindlichkeit der L_3- und L_4-Larven des Kartoffelkäfers (Leptinotarsa decemlineata Say.). *Z. f. Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* **62** (1955), pp. 564-572.

McKENZIE, R. E. & HOSKINS, W. M. — Correlation between the length of the larval period of Musca domestica L. and resistance of adult flies to insecticides. *J. Ec. Ent.* **47** (1954), pp. 984-992.

MELTZER, J. — Research in insect-resistance. A survey of the literature. 1956 ter perse.

MER, G. G. and FURMANSKA, W. — The effect of the fat content in the fly food on the resistance to DDT. *Riv. Parassit.* **14** (1953), pp. 49-54.

PERRY, A. S., FAY, R. W. and BUCKNER, A. J. — Dehydrochlorination as a measure of DDT-resistance in houseflies. *J. Ec. Ent.* **46** (1953), pp. 972-976.

PERRY, A. S. & HOSKINS, W. M. — The detoxification of DDT by resistant houseflies and inhibition of this process by piperonyl cyclonene. *Science* **111** (1950), 600-601.

PERRY, A. S. & HOSKINS, W. M. — Synergetic action with DDT toward resistant houseflies. *J. Ec. Ent.* **44** (1951), pp. 839-849.

PERRY, A. S. & HOSKINS, W. M. — Detoxification of DDT as a factor in the resistance of houseflies. *J. Ec. Ent.* **44** (1951), pp. 850-857.

PIMENTEL, D., DEWEY, J. E. & SCHWARDT, H. H. — An increase in the duration of the life cycle of DDT-resistant strains of the housefly. *J. Ec. Ent.* **44** (1951), pp. 477-481.

PIMENTEL, D., SCHWARDT, H. H. & DEWEY, J. E. — Development and loss of insecticide resistance in the housefly. *J. Ec. Ent.* **46** (1953), pp. 295-298.

PRATT, J. J. and BABERS, F. H. — The resistance of insects to insecticides. Some differences between strains of houseflies. *J. Ec. Ent.* **46** (1953), pp. 864-869.

ROTH, A. R. & LINDQUIST, A. W. — Effect of temperature and the activity of houseflies on their absorption of DDT. *J. Ec. Ent.* **46** (1953), pp. 127-130.

SACKTOR, B. — A comparison of the cytochrome oxidase activity of two strains of houseflies. *J. Ec. Ent.* **43** (1950), pp. 832-838.

SACKTOR, B. — Some aspects of respiratory metabolism during metamorphosis of normal and DDT-resistant houseflies, Musca domestica L. *Biol. Bull.* **100** (1951), pp. 229-243.

STERNBURG, J., KEARNS, C. W. and MOOREFIELD, H. — Resistance to DDT.

DDT-dehydrochlorinase, an enzyme found in DDT-resistant flies. *Agricult. and Food Chem.* 2 (1954), pp. 1125-1130.

VARZANDEN, M., BRUCE, W. N. and DECKER, G. C. — Resistance to insecticides as a factor influencing the biotic potential of the housefly. *J. Ec. Ent.* **47** (1954) pp. 129-134.

WALOP, J. N., MELTZER, J. & JAEGER-DRAAFSEL, E. — Activation of acetylcholinesterase in insects. XXth Physiol. Congr. Brussels 1956.

WIESMANN, R. — Neue Erkenntnisse über das Wesen des Insektizidresistenz. Communication Com. Europ. Congr. Int. Lutte contre les Ennemis des Plantes, Mondorf-les-Bains, 7-9 Sept. 1955.

FAKTOREN DIE VAN INVLOED ZIJN OP HET ONTSTAAN VAN „SPUITBESCHADIGINGEN”

door

A. F. H. Besemer

Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen

Wanneer men een enigermate volledige analyse tracht te maken van de faktoren die bijdragen tot het ontstaan van beschadigingen van het gewas tengevolge van het toepassen van bestrijdingsmiddelen, dan zou men in sterke mate aandacht moeten schenken aan de menselijke faktor. Vele spuitbeschadigingen zijn terug te voeren op fouten en vergissingen die gemaakt worden bij de fabricage, het vervoer en het toepassen van de middelen. Enkele van de meest voorkomende fouten op dit gebied willen wij vermelden, zonder er nader op in te gaan.

1e „**spuitbeschadigingen**” welke hun oorzaak vinden in fouten die gemaakt werden bij de **fabricage**.
   a. Slechts zelden treft men aan, dat een verkeerd bereidde charge oorzaak is van spuitschade.
   b. verpakking van het middel in onvoldoende gereinigde retourvaten geeft wel eens aanleiding tot het ontstaan van schade.

2e **moelijkheden ontstaan bij, of tengevolge van het transport** van bestrijdingsmiddelen.
   a. verontreiniging van het middel (bijv. DDT-spuitpoeder) door het lekken van de verpakking van een ander middel (bijv. onkruidbestrijdingsmiddel op hormoonbasis).
   b. verwisseling van losgeraakte labels.

3e **Beschadiging die optreedt** tengevolge van verkeerde of onvoldoende etikettering bij de tussenhandel, bij de loonspuiter of van restanten van middelen bij de gebruiker. Hierdoor worden middelen verwisseld en wordt soms gespoten met een middel dat veel beschadiging te weeg brengt in plaats van met een middel dat werkzaam is tegen een bepaalde parasiet. In de praktijk in Nederland komen ieder jaar vele van dergelijke gevallen voor.

4e **,,spuitbeschadiging''** tengevolge van fouten die bij het spuiten zelve gemaakt worden.

a. beschadiging kan gemakkelijk ontstaan tengevolge van verontreiniging van de sproeitank, van gereedschap of door verontreiniging van het gebruikte sproeiwater.

5e **Schade die door ,,buren'' veroorzaakt wordt**; tengevolge van het overwaaien van sproeistof treedt soms ernstige beschadiging op.

Berucht in is ons land het overwaaien van onkruidbestrijdingsmiddelen op ,,groeistof''-basis op aangrenzende bieten velden, koolzaadvelden etc. Veel schade aan fruit treedt op tengevolge van het overwaaien van kopermiddelen die op aardappelen tegen Phytophtora gespoten worden en van arsenieten, die men gebruikt voor het doodspuiten van aardappelen.

Ten aanzien van de hiervoor genoemde verontreiniging van sproeitank, gereedschap e.d. moet vermeld worden, dat de kweker niet voorzichtig genoeg kan zijn in verband met mogelijke verontreiniging door ,,groeistoffen''. Ter illustratie hiervoor een tweetal tekenende voorbeelden.

Bij het uitplanten van sla in kassen gebruikte een kweker een lorrie om het plantmateriaal langs de kassen te rijden. In het voorjaar bleek op grillig verdeelde plaatsen ,,groeistofbeschadiging'' in de kassen voor te komen. Achteraf bleek, dat dit de planten waren die bij het transport met de lorrie in aanraking gekomen waren. Geruime tijd voordien had men op de lorrie groeistof in poedervorm afgewogen. Een kleine hoeveelheid gemorste ,,groeistof'' was in dit geval oorzaak van een veel later optredende beschadiging, ondanks het feit dat de lorrie voortdurend voor diverse werkzaamheden in het bedrijf gebruikt was.

Eind april 1956 traden bij een kweker ernstige misvormingen aan de wortelhals bij sla en bloemkool op, welke onder platglas geteeld werd; de symptomen duidden op invloed van een onkruidbestrijdingsmiddel op groeihormoon basis.

Herkomst van het middel : Eind februari werd door een detailhandelaar kopernaphtenaat voor het conserveren van de houten raamlijsten afgeleverd in een blik, waarin voordien een groeistofhoudend middel verpakt geweest was.

Doch genoeg van deze menselijke fouten, die onnodige beschadigingen van het gewas na toepassing van bestrijdingsmiddelen veroorzaken. Wij willen ons thans bepalen tot die faktoren, welke inherent zijn aan de bestrijdingsmiddelen zelve.

Op gevaar af beticht te worden een gemeenplaats te gebruiken lijkt het mij goed als uitgangspunt te stellen, dat men door bestrijdingsmiddelen te spuiten men stoffen op de plant brengt, die

daarop van nature niet thuishoren. In het algemeen verdragen de meeste gewassen een behandeling met een middel in de door de fabrikant aangegeven sterkte. Deze aanwijzingen zijn immers veelal gegrond op vele proefnemingen, welke door hem en door diverse officiele instanties genomen zijn. Toch zijn onaangename verrassingen nimmer uit te sluiten. Soms verdraagt een bepaald gewas of een bepaald ras de behandeling met een middel niet; soms ook treden slechts beschadigingen op in een beperkte periode van de ontwikkeling van het gewas en in andere perioden niet of in geringere mate. De meeste ervaring op dat gebied heeft men opgedaan in de fruitteelt. Het volgende heeft dan ook in hoofdzaak hierop betrekking.

Om deze vorm van spuitbeschadiging nader te preciseren willen wij de volgende facetten bespreken.

1e **rasgevoeligheid** (De appel Cox's Orange Pippin is gevoelig voor bespuitingen met koper, zoete appelrassen voor zwavel; peren en enkele appelrassen verdragen nà de bloei geen bespuitingen met organische kwikpreparaten.

2e **gevoeligheid of extra gevoeligheid in een bepaalde periode.** Bij fruitbomen ligt deze vanaf de bloei tot ongeveer één maand na de hoofdbloei.

3e **moeilijkheden voortvloeiende uit ongewenste opeenvolging van bestrijdingsmiddelen.**

4e **ongewenste menging van middelen.**

ad. 1. Van de van ouds gebruikte middelen is langzamerhand wel bekend welke fruitrassen gevoelig zijn, doch met de vele nieuwe verschijningen op de markt doet men nog dagelijks onverwachte ervaringen op; een snelle uitwisseling van gegegevens is hierbij geboden. In dit kader vermelden wij dat in Nederland enkele pererassen gevoelig bleken voor captan, nl. Brederode, President Loutreuil, Soldat Laboureur, en ook het pruimenras Ontario. De peer Bonne Louise en het appelras Lombarts Calville zijn gevoelig voor bespuitingen met dinitrorhodaanbenzeen. Bespuitingen met PCPBS een spintovicide, geeft vaak beschadigingen op de appelrassen, James Grieve, Zigeunerin, Perzikrode Zomerappel, Worcester Parmain etc. terwijl enkele pererassen w.o. Conference in ons land en in Canada gevoelig bleken voor PCPCBS.

ad. 2. In vele gevallen ziet men echter dat de rassen in een bepaalde periode kort na de bloei vooral gevoelig zijn en dan gemakkelijk spuitbeschadiging optreedt, terwijl buiten die

periode de betreffende middelen door het gewas min of meer verdragen worden. Zelfs voor zoete appelrassen geldt dit enigermate. In mei en begin juni krijgt men met zwavelhoudende middelen sterke beschadiging en treedt blad- en vruchtrui op; in augustus kan men vaak ongestraft zoete appels met zwavel bespuiten.

In Nederland is op het bestaan van deze gevoelige periode nog eens sterk de aandacht gevestigd door twee practici Keyer en Dijksterhuis.

In een groot aantal proefnemingen van de Plantenziektenkundige Dienst kwam in vele jaren deze gevoelige periode zeer duidelijk tot uiting. Niet bevestigen konden wij de langzamerhand in ons land post gevatte mening, dat het gewas de grootste gevoeligheid toont 20 dagen na de hoofdbloei. In 1954 bleken vele appelrassen in het centrum en zuiden van Nederland 15 dagen na de hoofdbloei nl. op 24 mei een maximale gevoeligheid t.a.v. bespuitingen te bezitten.

In de laatste tijd wordt op vele plaatsen o.a. aan de Cornell University onderzoek gedaan naar de physiologische achtergronden van genoemde ,,gevoelige periode'' kort na de bloei bij het fruit; aanleiding daartoe was o.a. het feit ,dat men in de USA in genoemde periode vaak zeer ongunstige neveneffecten van een aantal fosforesters constateert.

Het ongunstige effect van vele bespuitingen in de ,,gevoelige'' periode na de bloei uit zich niet steeds in even sterke mate. Uitwendige omstandigheden, zoals vochtbehoefte, grondsoort, voedingstoestand van de boom, onderstam e.d. spelen allen een rol t.a.v. het meer of minder gevoelig zijn voor een bepaald middel. Van invloed zijn ook de voorgaande bespuitingen. Vastgesteld werd o.a. dat wanneer appels voor de eerste maal gespoten werden kort nà de bloei, met een vrij agressief middel zoals organisch kwik, terwijl het gewas voordien geen kwikbespuitingen gekregen had, steeds sterke bladval en vruchtrui optrad. Deze beschadiging bleef vrijwel geheel achterwege bij objekten die op hetzelfde tijdstip met een organisch kwikmiddel gespoten werden, doch die vóór die tijd (vóór de bloei) reeds een drietal bespuitingen met organische kwikmiddelen gekregen hadden

Ook bij andere middelen, o.a. ziram en spuitzwavel werd eenzelfde effect geconstateerd. Op grond van het voorgaande kan men zich niet aan de indruk onttrekken, dat de boom min of meer gewennen kan aan een bepaald bespuitingsmiddel.

Niet alleen een zekere gewenning aan een middel kan voorkomen, maar ook min of meer het omgekeerde, nl. dat een middel sterkere ongunstige nevenwerkingen vertoont (verruwing, vruchtrui etc.) naarmate het middel vaker achtereen gespoten wordt.

Vooral bij middelen op basis van ferbam en ziram konden wij in een aantal proefvelden en praktijkgevallen een dergelijke „oververzadiging" vaststellen. Wanneer de middelen tot ca 3 malen na de bloei gespoten werden hadden ze in het algemeen een zeer gunstig effect op de blad- en vruchtontwikkeling. Wordt het middel echter meer dan 4 × na de bloei gespoten, dan wordt de invloed van het middel steeds ongunstiger. De vruchten krijgen een ruw uiterlijk en een lelijke kleur. Wanneer men één of meer van de ziram-bespuitingen combineert met een vloeibaar insecticide, dan wordt het genoemde effect nog versterkt en eventueel wordt sneller het punt bereikt, waarop het middel ongunstig gaat werken, t.a.v. vruchtontwikkeling en uiterlijk van de vruchten.

Bij een proef in Zeeland was de opbrengst van objekten welke 6 × na de bloei gespoten waren met ziram en 2 × met TMTD kort voor de oogst, belangrijk minder dan bij de objekten die 4 bespuitingen met ziram kregen, gevolgd door twee TMTD bespuitingen. De opbrengst van het eerstgenoemde objekt was lager dan van objekten die na de bloei geen bespuitingen met fungiciden ontvingen. Het volgend jaar werden steeds alle objekten met eenzelfde middel bespoten, na de bloei in hoofdzaak TMTD. Op de objekten, die in het vorige jaar een oogstderving, tengevolge van een te groot aantal zirambespuitingen vertoonden, was de opbrengst opnieuw lager dan van objekten, waarin een dergelijke oogstderving in het vorige seizoen niet opgetreden was. De ongunstige invloed van bespuitingen kan zich dus soms over meer dan één jaar uitstrekken.

ad. 3. Het is langzamerhand in de fruitteeltpraktijk in Nederland duidelijk geworden, dat de wijze waarop de middelen op elkaar volgen lang niet onverschillig is. In het algemeen is het niet gewenst een middel dat vrij „fel" kan werken op de bladstand e.d. en dus vrij gauw beschadiging veroorzaakt, te spuiten als de boom ingesteld is op middelen die niet zo agressief zijn. Dit geldt vooral in de periode dat de bomen kort nà de bloei extra gevoelig zijn, doch ook buiten deze periode kan men een dergelijk effect vaak in Nederland vaststellen.

Men kan bijvoorbeeld wel met gunstig gevolg na organisch-kwik bespuitingen, bespuitingen met middelen op basis van ziram laten volgen. Organisch kwik na ziram-bespuitingen heeft vrijwel steeds ernstige bladval tengevolge. In verband hiermede wordt als algemeen geldend praktijk-advies aangeraden in het schema van de bespuitingen tegen schurft of meeldauw, in de „gevoelige" periode niet op een ander middel over te gaan, doch dit eventueel te doen kort voor de bloei of nà genoemde periode. Om genoemde redenen

worden de bespuitingen tegen meeldauw met zwavel reeds voor de bloei gestart. ook als het eventueel in verband met de ontwikkeling van de meeldauw nog niet nodig zou zijn.

ad. 4. De kans op het optreden van ,,spuitbeschadiging" wordt sterk vergroot door het *mengen* van bestrijdingsmiddelen. In de praktijk bestaat sterke neiging tot menging in verband met de belangrijke kostenbesparing op arbeid, water etc. Men moet echter bedenken, dat in het algemeen betere uitkomsten verkregen worden met afzonderlijke bespuitingen dan met samengestelde.

Ook als tussen twee bestrijdingsmiddelen bij menging geen chemische reactie optreedt, waardoor schadelijke stoffen ontstaan, kan menging minder gunstig werken. In de meeste spuitmiddelen zit een uitvloeier. Mengt men nu twee van dergelijke middelen, dan kan het vaak voorkomen, dat in de combinatie te veel uitvloeier voorkomt. Het gevolg hiervan kan zijn geringe bestendigheid tegen regen en een onvoldoend regelmatige verdeling van de actieve stof, op de plant waardoor vergrote kans op schade.

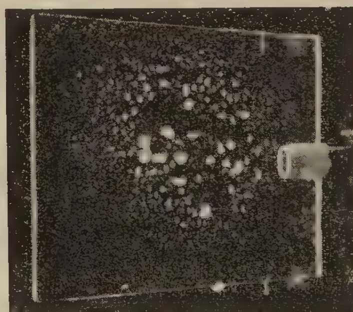


Foto 1. — Demonstratie van de invloed van de toename van de uitvloeier bij de menging van fungiciden en insecticiden.
Links : glasplaatje (gecoat), bespoten gedurende 9 sec. met TMTD 80% in 0,2%.
Rechts : gespoten gedurende de zelfde tijd met mengsel van genoemde TMTD met DDT 25% m.o. in 0.3%. Vloeistof begint af te druipen.

Bij het nevelen kan een teveel aan uitvloeier in dergelijke combinatie oorzaak zijn, dat de druppeltjes niet ,ter plaatse' opdrogen, maar voordat ze opgedroogd zijn samenvloeien, waardoor te veel actieve stof op een te kleine oppervlakte komt. Hierdoor ontstaat gemakkelijk beschadiging van de plant.

Om dit effect van de hoeveelheid uitvloeier te bestuderen, deden wij o.m. enige proeven met 2 typen ferbam, waarbij het enige verschil bestond in de hoeveelheid uitvloeier in het middel. Het ene

type bevatte de normale hoeveelheid uitvloeier, zoals voorkomt in spuitpoeders, die gebruikt worden voor bespuiting met normale hoeveelheden spuitvloeistof per ha (ca. 4000 l), het tweede slechts 1/10 van die hoeveelheid.

De volgende tabel vertoont de invloed op het uiterlijk van het fruit. De middelen werden toegediend in een dosering van 200 l/ha met een „Kiekens Dekker" nevelspuit. De toediening vond plaats in de avond of 's nachts op 6 en 28 mei en op 6 juni met ferbam 65% in concentratie 1,25% pereras Bonne Louise (gevoelig voor zwavel).

Gespoten met :	% vruchten met oppervlakkige schilverruwing
Spuitzwavel	54%
Californische pap	82%
Ferbam, normaal handelspreparaat	75%
Ferbam, voor verneveling (1/10 van de hoeveelheid uitvloeier)	60%

Niet alleen een te grote hoeveelheid uitvloeier bij menging van middelen kan spuitbeschadiging in de hand werken; bij menging van fungiciden met vloeibare insecticiden spelen de in deze insecticiden voorkomende organische oplosmiddelen een zeer belangrijke rol. Deze oplosmiddelen moeten er voor zorgen, dat de op zich niet in water oplosbare actieve stof, met water mengbaar wordt.

Wanneer men voor de menging met een fungicide een vloeibare vorm van een insecticide gebruikt treedt vrijwel steeds meer beschadiging op dan wanneer men mengt met een insecticide in spuitpoedervorm. Hoe agressiever het betreffende fungicide op de

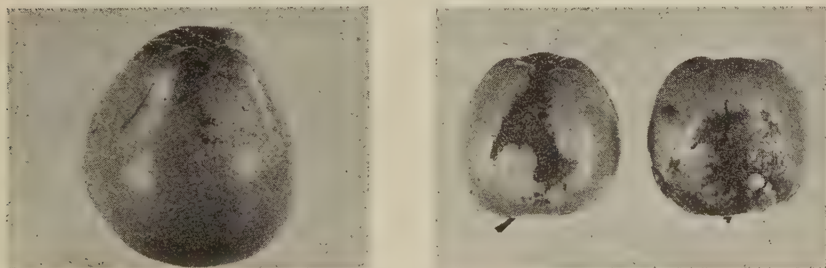


Foto 2. — Appel; Lombarts Calville. Toename van beschadiging tengevolge van het mengen van dinitrorhodaanbenzeen spuitpoeder met vloeibare parathion.
Links : appel bespoten met dintrorhodaanbenzeen eind mei 1955;
Rechts : bespoten met mengsel van genoemd fungicide met vloeibaar parathion op dezelfde datum. Foto's genomen aug. 1955.

plant werkt, des te sterker is de beschadiging na menging met vloeibare middelen.

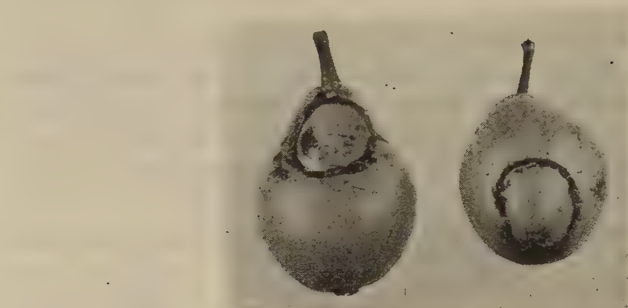


Foto 3. — Beschadiging veroorzaakt door een gemengde bespuiting van ferbam met vloeibare parathion; bespuiting uitgevoerd 24 mei 1955.

De beschadiging is van tweeërlei aard, nl. *versterkte rui* gedurende de maanden mei en juni en een sterker optredende verruwing van de vruchten, zowel in genoemde periode als ook later in het seizoen.

Wij vonden niet alleen bij gebruik van parathion in vloeibare vorm meer beschadiging dan bij menging met hetzelfde middel in spuitpoedervorm, doch eveneens bij diazinon, lindaan, DDT, PCPBS, PCPCBS, etc.

Dat de vloeibare formulering van een insecticide meer beschadiging geeft dan een spuitpoeder, moet ook weer voor een groot deel toegeschreven worden aan het feit, dat de emulsievormen gewoonlijk wat meer in het blad penetreren dan de spuitpoeders. Bovendien bevatten de emulgeerbare insecticiden en emulsies van insecticiden gewoonlijk een belangrijk grotere hoeveelheid organische oplosmiddelen dan spuitpoeders. In dergelijke oplosmiddelen gaat gemakkelijk iets van het fungicide in oplossing en met het oplosmiddel dringt er op de wijze iets van het fungicide in het blad; als gevolg hiervan kan soms beschadiging optreden. De meeste fungiciden zijn niet oplosbaar in water. Verspuit men een waterige suspensie van een spuitpoeder, dan blijft het fungicide na verdamping van het water aan het buitenoppervlak van het blad. De penetratie in het blad is meestal minder dan wanneer organische oplosmiddelen e.d. in het spel zijn.

Bovengenoemde ervaringen werden in 1954 en '55 met zeer vele fungiciden opgedaan, o.a. bij captan, organisch kwik, spuitzwavel, dinitrorhodaanbenzeen, ziram etc.

Er zijn enkele insecticiden o.a. malathion, waarbij we bij bepaalde merken constateerden, dat de fungiciden vermoedelijk ook in het *actieve* agens oplossen. Bij menging van een spuitpoeder

op basis van dinitrorhodaanbenzeen met malathion-spuitpoeder vonden wij dat de DRB onvoldoende neiging toonde om in het water te blijven, doch een sterke neiging had om zich met de

Foto 4. — Beschadiging tengevolge van de ontmenging in de spuitoplossing van een mengsel dinitrorhodaanbenzeen en malathion spuitpoeder.

malathion te vereniging. Hierdoor ontstonden grove partikels, bestaande uit DRB en malathion, die sterk uitzakten. Op de boom gespoten gaf dit mengsel, mede doordat de malathion vermoedelijk enigermate de penetratie bevorderde, sterke verbrandingsverschijnselen te zien op blad en vrucht. In dit geval heeft men bij de menging van een insecticide in spuitpoedervorm met een fungicide spuitpoeder dezelfde bezwaren als bij de hierboven besproken menging van fungiciden met vloeibare formuleringen van insecticiden.

Tegen sommige parasieten (o.a. bloedluis) geven vloeibare insecticiden, vooral van de fosforester, parathion, diazinon, soms een betere uitwerking dan spuitpoeders, juist omdat de vloeibare middelen vaak (echter niet altijd) zo gemaakt zijn, dat ze sterker dan de spuitpoeders in de insecten, de mijten of de bladeren doordringen.

Vloeibare formuleringen van parathion en andere fosforesters kunnen dus op zich of in combinatie met fungiciden een verruwing op fruit teweegbrengen.

Daarnaast treedt na bespuitingen met parathion en enige verwante middelen een geheel ander type beschadiging op, nl beschadigingen die sterke overeenkomst vertonen met die welke door ,,groeistoffen'' wordt veroorzaakt. Voorlopig zijn dergelijke groeistofachtige beschadigingen alleen bekend van vloeibare formuleringen, terwijl spuitpoeders met eenzelfde actieve stof ze niet vertonen. Vrij zeker moet dit toegeschreven worden aan het feit, dat laatstgenoemde middelen minder sterk in het blad penetreren kan bijv. emulsies. Vooral de emulsie-typen die een sterk penetrerend karakter hebben, geven de sterkste symptomen van afwijkende groei te zien.

Het was de kwekers van kassla in Nederland reeds lang bekend, dat na gebruik van vloeibare parathion-preparaten groeiafwijkingen bij sla voorkomen; bij gebruik van spuitpoeders, dat thans vrijwel overal gebeurt, treden dergelijke verschijnselen niet op. Eenzelfde symptoom van beschadiging krijgt men op kassla met een lichte

Foto 5. — *Sla onder glas* : beschadigingsbeeld veroorzaakt door bespuitingen met vloeibare parathion. Beschadigingsbeeld gelijkt op dat van ,,groeistof'', in een lage dosis.

dosis van MCPA. De bladeren worden smaller en dikker, de rand van de blaadjes blijft niet vlak, doch krult naar achteren, regelmatig over de gehele lengte van het blad. Vooral aan de top van de blaadjes zijn de nerven meer gedeeld dan normaal. De gehele plant heeft meer weg van een Primula dan van sla.

Foto 6. — Groeistofachtige beschadiging op Pelargonium, veroorzaakt door een vloeibare formulering van parathion. Bespuiting april 1956.
Rechts : plant bespoten met een vloeibaar parathion preparaat.
Links : bespoten met parathion spuitpoeder.

Ook jonge tomatenplanten zijn zeer gevoelig voor vloeibare fosforesters. Toen aanvankelijk alleen vloeibare formuleringen van parathion op de markt waren meende men, dat toepassing van parathion op dit gewas niet mogelijk was. Later is gebleken, dat men veilig spuitpoeders van parathion kan gebruiken.

Vooral jonge sterk groeiende tomatenplanten zijn gevoelig; de symptomen treden zelden bij oudere planten op. Bij tomaten worden de topblaadjes smal en de nerven worden zeer sterk vertakt. De stand van de bladeren verandert, het sterkst vlak onder de top. De bladsteel is niet schuin omhoog gericht, of horizontaal, maar naar omlaag gebogen.

Ook op druif in de kas hebben wij in een enkel geval een op groeistofbeschadiging gelijkend effect met een sterk penetrerende formulering vloeibaar parathion verkregen. Aan de top van het blad wordt de bladrand sterk ingesneden, zodat er vingervormige aanhangsels ontstaan. De bladnerven zijn zeer sterk vertakt.

Deze groeistofachtige afwijkingen door parathion vloeibaar veroorzaakt zijn niet tot kassen beperkt. Ze kunnen ook buiten optreden. Vóór 1954 hebben wij ze in de praktijk slechts sporadisch aangetroffen, doch eind mei 1954 traden ze op zeer veel plaatsen in Nederland op in appel- en pereboomgaarden. Vele rassen vertoonden deze verschijnselen. Vooral Goudreinet toonde de verschijnselen zeer sterk

De scheuteinden werden krom; de bladstelen bogen terug, zodat de bladeren niet meer „afstonden" maar vlak tegen de twijg kwamen te liggen. Ook de stelen van de jonge pas gezette vruchtjes kromden sterk en vele vruchten vielen af. De vruchten die bleven hangen, vertoonden een sterke verruwing. Dit alles kwam slechts in een zeer beperkte tijdsperiode voor, nl. na de bespuitingen welke op 22 mei en 24 mei 1954 plaats vonden. Op 22 mei viel na langdurige droogte voor het eerst enige regen, waarop de bomen reageerden met een plotselinge zeer sterke groei. Tengevolge van die sterke groei was het gewas blijkbaar extreem gevoelig geworden. Dat spuitpoeders met eenzelfde actieve stof (parathion) dergelijke groeistofachtige verschijnselen niet vertoonden, moet vermoedelijk toegeschreven worden aan het feit, dat laatstgenoemde middelen minder sterk in het blad penetreren dan bijv. emulsies.

Dergelijke „groeistof"-effecten werden ook waargenomen na gebruik van TEP en „Systox". De verschijnselen bleven niet tot fruit beperkt. Ook op vlas en erwten zijn eind mei 1954 op enige plaatsen overeenkomstige verschijnselen waargenomen.

Ook op suikerbieten hebben wij in enige gevallen eenzelfde effect gekregen, wanneer in overeenkomstige omstandigheden bieten met een vrij hoge dosis van een vloeibaar parathion gespoten werden. In alle gevallen waarin een dergelijke schade optrad, werden de bespuitingen eind mei begin juni uitgevoerd, terwijl het gewas nog jong was en ten tijde van de bespuiting in sterke groei verkeerde. De weersomstandigheden kwamen overeen met die waarbij op fruit met parathion „groeistof" schade optrad, nl. vrij hoge temperaturen, terwijl het gewas een grote vochtbehoefte had. Wij krijgen de indruk dat alle gevallen waarin dat type

schade optrad, gemeen hadden, dat het gewas sterk groeide, terwijl het gewas meer vocht verloor door verdamping dan door de wortels aangevoerd kon worden. Bij bespuiting met vloeibaar parathion trad waarschijnlijk een onverwacht sterke penetratie van het middel in het blad op.

Ook bij biet zijn de symptomen zeer typisch. De bladstelen van de oudere bladeren buigen terug, zodat de bladschijf vlak op de grond komt te liggen. In de jonge bladeren bij het groeipunt, worden de nerven sterker vertakt dan normaal. Bladeren die in het stadium van ontplooiing zijn, ontplooien zich vaak niet, maar vormen een buis, waaruit de allerjongste blaadjes groeien. Eenzelfde beeld krijgt men bijv. met een geringe dosis MCPA.

SAMENVATTING

Op het ontstaan van spuitbeschadigingen hebben verschillende faktoren invloed; o.a. spelen een rol rasgevoeligheid, groeiomstandigheden, grondcondities, gebrekziekten etc.

Bij fruitbomen tonen vele rassen een groot verschil in gevoeligheid gedurende het groeiseizoen. De bomen zijn vooral gevoelig voor beschadigingen in een periode van een sterke groei, vooral direkt na de bloei, tot ongeveer een maand na de hoofdbloei.

In welke mate in genoemde periode beschadigingen optreden hangt o.a. af van een gewenning van de bomen aan de bespuitingsmiddelen, tengevolge van voorafgaande bespuitingen.

In de praktijk wordt de kans op het optreden van beschadigingen sterk vergroot door het gemengd verspuiten van de middelen. Ook indien beide componenten geen chemische reactie geven kan het mengen een minder gunstig effekt hebben. In een mengsel van bespuitingsmiddelen is vaak te veel uitvloeier aanwezig. Het gevolg hiervan is een onvoldoende regelmatige verdeling van de actieve stoffen, waardoor in een aantal gevallen beschadiging ontstaat.

Bij vernevelen blijven de geconcentreerde druppeltjes niet apart en drogen niet ter plaatse op, doch ze vloeien samen. Er komt dan te veel actieve stof op een bepaalde oppervlakte en beschadiging is het gevolg.

Bij het mengen van vloeibare insecticiden met fungicidensuspensies spelen bovendien de organische oplosmiddelen die in het insecticide voorkomen een belangrijke rol. Vrijwel alle in de fruitteelt toegepaste fungiciden zijn onoplosbaar in water, doch ze lossen enigermate op in genoemde oplosmiddelen. Door mengen met genoemde vloeibare preparaten wordt vaak de penetratie van het fungicide in het blad bevorderd, waardoor gemakkelijk beschadiging optreedt.

In de afgelopen jaren hebben vloeibare preparaten van parathion en van enkele andere fosforesters typische beschadigingen teweeggebracht op diverse gewassen, zowel in de teelt onder glas als buiten.

Deze beschadigingen doen sterk denken aan die welke veroorzaakt wordt door een lage dosis van een onkruidbestrijdingsmiddel op „groeistofbasis".

SUMMARY

Several factors influence the occurence of spray damage, e.g. susceptibility of the variety, soil conditions and mineral deficiencies.

Many varieties of fruit trees show great differences in susceptibility during the growing season. The trees are quickly damaged during a period of vigorous growth, especially immediately after blossoming until about a month later.

To what extend damage occurs depends on the habituation of the trees to the spray materials due to earlier applications.

In practice the chance of damage is greatly enlarged by the mixed use of spray materials. Also in case the components do not react mixing may have a less favourable effect.

Very often there is too much of a wetting agent in a combination of spray materials. As a result an unregular distribution of active materials occurs which may cause damage. In case of low volume spraying the concentrated droplets do not stay apart but run together.

Thus too much active material is concentrated in a small area and causes damage.

When mixing liquid formulations of insecticides with suspensions of fungicides the organic solvents in the insecticides play an important role. Nearly all fungicides for fruit tree spraying are *unsoluble* in water, but they solve more or less in the organic solvents.

Very often the penetration of the fungicide into the leaf is promoted by mixing with these liquid formulations, thus easily causing damage.

In the past few years liquid formulations of parathion and some other phosphorus compounds have caused very typical damage to several crops grown in the glass-house and outdoors. This damage strongly resembles those caused by low concentrations of a hormone type of weedkiller.

Universiteit te Gent. Laboratorium voor Algemene en Toxicologische Scheikunde
Bestuurder : Prof. Dr. R. GOUBAU

DE BEPERKTHEID VAN HET SCHEIKUNDIG TOXICOLOGISCH ONDERZOEK BIJ PARATHION (E605) VERGIFTIGINGEN

door

A. Heyndrickx (*)

Inleiding

Het veelvuldig gebruik van parathion als phytopharmaceutisch product is de laatste jaren zo veralgemeend geworden, dat onvermijdelijk vergiftigingsgevallen moesten plaats grijpen. Het aantal van deze accidentele intoxicaties werd nog vergroot, doordat er in België geen voldoende wetgeving bestaat om de gebruiker te behoeden tegen zijn onwetendheid, en omdat het verhandelen ook door onbevoegden mag geschieden. Dit stijgend aantal vergiftigingen welke voornamelijk in het vlaams gedeelte van België voorkomen heeft er ons toe aangezet onze voorgaande mededeling betreffende dit zeer actueel probleem verder aan te vullen (1).

Op de thans onderzochte gevallen waren er op vijftien, dertien kinderen welke stierven binnen de vier uur. Het waren ongelukken veroorzaakt door de kleine flesjes, inhoud 15 cc, E.605 Forte Bayer; één daarvan vond zijn oorsprong in het onder poedervorm gebracht vergift.

Pharmacologische Werking.

Parathion, zoals de organische fosfaten : H.E.T.P., T.E.P.P., O.M.P.A. enz., is een cholinesterase inhibitor, en daardoor zeer werkzaam op insecten, daar hun zenuwsysteem geheel uit cholinergische draden is samengesteld. De alkyl-oxy-fosfaatbinding brengt een onmiddellijke toxiciteit teweeg bij insecten en mammalia, en laat een vlugge hydrolyse toe voor de detoxicatie.

Deze stoffen zijn giftiger en sneller in hun werking dan nicotine, ze zijn 20 tot 150 maal giftiger dan DDT, echter veel

(*) Aangesteld Navorser van het Nationaal Fonds voor Wetenschappelijk Onderzoek.

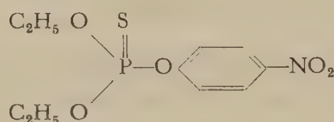
gevaarlijker daar ze gemakkelijk worden geabsorbeerd door de huid die er door geirriteerd wordt (0,3 g per dag is gevaarlijk).

Bij mammalia brengen ze een muscarimisch effect teweeg door het aanwakkeren van de postganglionische cholinergische zenuwen, en een nicotinisch effect door het aanwakkeren van de preganglionische en somatische zenuwen.

Kinderen welke al spelend slechts lichtjes hun handen bevuilden met parathion en er aan likten, stierven binnen het uur soms na 30 minuten.

Chemische en fysische eigenschappen van parathion

E605 is naar Schrader het o,o-diethyl-o-p-nitrophenylthiofosfaat :



De stof is een bruin-gele olieachtige vloeistof met knoflookachtige reuk. Ze is oplosbaar in alkoholen, ketonen, ethers, aromatische en gealkyleerde aromatische koolwaterstoffen, plantaardige en dierlijke oliën en vetten; ze is moeilijk oplosbaar in petroleumether en minerale oliën. De oplosbaarheid in water is bij kamertemperatuur 1/20.000.

Het kookpunt ligt bij 1 mm Hg tussen 173° en 175° C. Bij 20° C bedraagt de vluchtigheid 0,09 mg/m³. De dichtheid is 1,26665; de brekingsindex 1,5370.

In waterig milieu bij kamertemperatuur en pH-waarden tussen 4 en 8 gelegen, is het product bestendig, in alkalische oplossingen (pH 9-11) wordt het vlug ontbonden. E605 kan een temperatuur van 150° C verdragen, bij hoger gelegen temperaturen treden veranderingen op, welke het ontstaan geven aan weinig werkzame bestanddelen.

Toxicologisch onderzoek

Het bereiden van de extracten werd als volgt uitgevoerd : Het orgaan wordt zeer fijn gesneden en aan een extractie onderworpen, in wijnsteenzuur midden, met alkohol van 40° gedurende 24 uur bij kamertemperatuur. Na filtreren wordt de alkohol in het vacuum afgedestilleerd. De rest wordt heropgelost in alkohol van 96°, en de bewerking viermaal herhaald als hoger opgegeven. Uiteindelijk wordt een extractie uitgevoerd met absolute alhohol. Nieuwe extractie met thiopheenvrije benzol. Na afdampen wordt

aan de rest 50 ml water toegevoegd, aangezuurd met wijnsteenzuur. Deze oplossing wordt driemaal uitgetrokken met 50 ml ether. De etherische oplossing wordt afgedampt, en de rest heropgelost en aangelengd in een maatkolfje van 10 ml, met alkohol van 96°.

De vier voornaamste analysemethoden, waarvan de meeste zijn af te leiden, zijn :

1) Colorimetrische methode.
2) Polarographische methode.
3) Methode door Infra-rood spectrophotometrie.
4) Biologische methode.

1. *Scheikundig qualitatief onderzoek*

a) aan 0,5 ml der alkoholische oplossing wordt 0,05 ml NaOH aan 15% toegevoegd. Een gele verkleuring wijst op de aanwezigheid van p-nitrophenol. Het is immers gekend dat parathion hydrolyseert in een midden van pH 8-9, in zijn twee bestanddelen : het natriumzout van het diethylfosforzuur en het p-nitrophenol.

b) aan 2,5 ml der alkoholische oplossing wordt 2 ml H_2O, 0,5 ml 5 N HCl en 0,05 g Zn in poeder toegevoegd. Het mengsel wordt gedurende 5 min. op het W. B. gehouden.

Na filtratie wordt aan het filtraat 0,25 ml ener 2,5% ammonium sulfamaat oplossing toegevoegd. Eindelijk na 10 min., 0,5 ml ener 1% oplossing van N-α-naphtylethyleendiamine-hydrochloride. Een rode-violette verkleuring wijst op de aanwezigheid van parathion; p-nitrophenol geeft deze verkleuring niet.

Deze colorimetrische reacties, en bijgevolg ook de quantitatieve bepalingen welke daarvan zijn afgeleid (2, 3), zijn in de toxicologie van weinig betekenis om de volgende redenen. De gevoeligheid der reactie met NaOH is niet voldoende om in bepaalde vergiftigingsgevallen een positieve uitslag te geven, zo waren slechts een viertal gevallen positief; alhoewel de andere vergiftigingen door biologische proeven, als verder zal omschreven worden, positieve uitslagen naar voren riepen. Wat de diazotatie en koppelingsreacties met N-α-naphtylethyleendiamine betreft, hebben we ondervonden dat extracten verkregen uit lijkdelen van personen welke een normale dood gestorven waren, ook een verkleuring teweeg brengen. Het is bijgevolg uitgesloten deze identificatie te gebruiken om een parathion vergiftiging aan te tonen.

2. *Onderzoek door Infra-rood spectrophotometrie*

Het extract, heropgelost in CCl_4, wordt afgedampt op NaCl plaatjes waarop het extract zich afzet. De opname heeft plaats met een „Perkin-Elmer double beam spectrophotometer 21" voorzien van een NaCl prisma. Een controle opname heeft plaats met een

oplossing verkregen door extractie van een oplossing E605 Forte Bayer, welke 50% van het actieve bestanddeel bevat. De verkregen curve beantwoordt volkomen aan de gegevens beschreven door Derkosch en Mayer (4). Deze schrijvers geven als karakteristieke banden :

Groep NO_2 :	1595 cm^{-1}	1349 cm^{-1}	
Groep $P\text{-}O\text{-}C_2H_5$:	1230 cm^{-1}	970 cm^{-1}	798 cm^{-1}

Voeren we nu de proeven uit met extracten verkregen uit lijkdelen, dan ziet men dat bij een geval van een acute intoxicatie met dodelijke afloop (binnen de 30 min.), de karakteristieke banden in het spectrum niet terug te vinden zijn. De methode is bijgevolg niet gevoelig genoeg om het vergift op te sporen.

3. *Polarographisch onderzoek*

3 ml der alkoholische oplossing worden afgedampt, en terug in oplossing gebracht in een electroliet als beschreven door Bowen en Edwards (5). De samenstelling is als volgt : 0,1 N CH^3COOH; 0,05 N KCl; 0,01% gelatine en een oplossing van 50% aceton in water. Het totale volume voor deze bepalingen is 5 ml. De stroom-potentiaalcurve wordt opgetekend met een Sargent XXI polarograaf. Parathion geeft een diffusiestroom met een halfwaarde potentiaal van $E1/2 = -0,375$ volt ten opzichte van de verzadigde calomel electrode (V.C.E.). Bepalingen uitgevoerd met dezelfde extracten als beschreven voor het infra-rood onderzoek, gaven geen enkele diffusiestroom in het polarogram. Deze methode is dus ook niet gevoelig genoeg om parathion aan te tonen.

4. *Biologische proeven*

Ter bepaling der acetylcholinesterase werking van het plasma hebben we gebruik gemaakt van de techniek beschreven door Morand en Laborit (6).

1) **Reagentia :**

1) Decinormale oplossing van NaOH (nauwkeurig getitreerd).
2) 0,01 N oplossing van NaOH op het ogenblik van gebruik bereid met bigedestilleerd water.
3) 0,01 N oplossing van acetylcholinechlorhydraat. Daartoe werden 0,182 g der stof opgelost in 50 ml water, en 1 ml 10% azijnzuur toegevoegd. De oplossing wordt aangelengd in een maatkolf van 100 ml en bewaard in de ijskast bij + 4° C. (tijd van bewaring : 1 maand).
4) Een 0,2% oplossing van cresolrood in alkohol van 60°.

2) **Methode :**

20 ml geheparineerd bloed van de hond, worden gecentrifugeerd gedurende 20 min. bij 3.000 toeren. Het plasma mag daarbij niet rood gekleurd zijn door hemolyse.

3 ml van het te onderzoeken alkoholisch extract worden afgedampt, men voegt er 10 ml der 0,01 N acetylcholine oplossing aan toe, 2 druppels der cresolrood oplossing en 0,5 ml serum.

Onmiddellijk daarop neutraliseert men de oplossing met 0,1 N NaOH uit een buret, totdat de violette verkleuring der oplossing een neiging vertoont om te verdwijnen. Vanaf dat ogenblik voegt men zorgvuldig met een microburet 0,01 N NaOH toe tot licht roze kleur. Onmiddellijk daarop wordt alles in een thermostaat geplaatst (35° C ± 1) en zet men een chronometer in werking.

Alle vijf minuten wordt het ontstane azijnzuur getitreerd met 0,01 N NaOH, er zorg voor dragend bij het begin van de kleuromslag de titratie stop te zetten; d.i. wanneer de oplossing van licht-geel overgaat naar een goud-gele kleur met violette schakering (beoordelen op witte ondergrond). Zo tekent men alle vijf min. gedurende 60 min., het volume 0,01 N NaOH op dat verbruikt werd. De 12 verkregen hoeveelheden opgeteld en uitgedrukt in 0,1 ml, geven rechtstreeks de acetylcholinesterase activiteit.

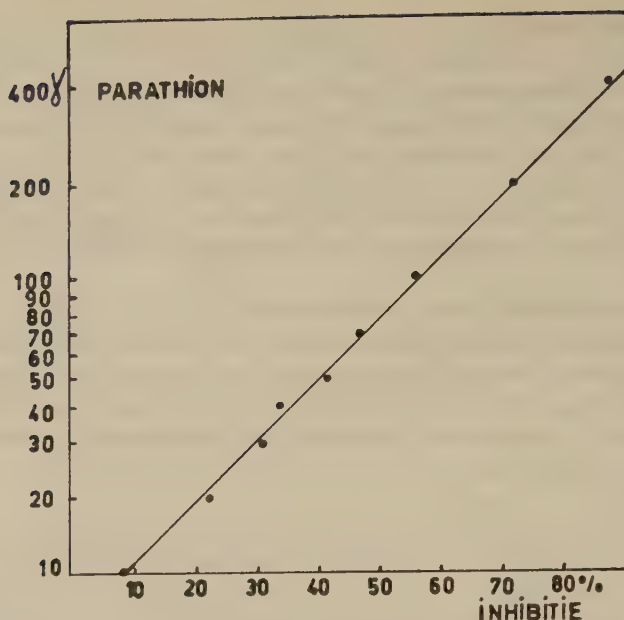
Het verlagen der acetylcholinesterase activiteit wordt uitgedrukt in % ten opzichte van het aantal 0,1 ml 0,01 N NaOH dat wordt verbruikt gedurende 60 min. om het vrijgekomen azijnzuur te neutraliseren in de blanco proef van het serum, aan dewelke dan een waarde van 100% wordt toegekend. De blanco proeven hebben ons geleerd dat het noodzakelijk is de bepalingen de dag zelf uit te voeren, daar de acetylcholinesterasewerking van het serum achteruitloopt met de tijd.

Ten einde de bepaling een quantitatieve waarde te geven, hebben we een standaard curve opgesteld uitgaande van een alkoholische parathion oplossing. Deze bepalingen werden uitgevoerd op identische wijze als beschreven voor de extracten.

Dank zij deze curve is het mogelijk de hoeveelheid parathion te bepalen aanwezig in de te onderzoeken extracten (*zie figuur en tabel*).

De gevoeligheidsgrens is 10 γ; alhoewel 2 γ en 5 γ een vermindering in de acetylcholinesterasewerking te weeg brengen, de fouten echter op deze laatste twee hoeveelheden zijn te groot.

Concentraties van 400 γ parathion kunnen nog met grote nauwkeurigheid bepaald worden.



Standaardcurve der biologische bepaling.

Tabel der biologische bepaling

Parathion vergiftiging van een 2-jarig kind veroorzaakt door het likken aan zijn handje bevuild met de oplossing. De dood trad in na 45 min. Alle qualitatieve bepalingen, behalve de biologische, vielen negatief uit, zoals hoger opgegeven.

Orgaan	Hoeveelheid ontleed in g	Vermindering der acetylcholinesterase activiteit in %	Hoeveelheid parathion uitgedrukt in γ
Tong en pharynx	63	64	153
Maag met inhoud	160	30	31
Darm met inhoud	82	26	25
Lever..........	232	24	24
Hersenen	582	4	<10 (1)
Spier	186	4	<10 (1)
Nier	65	0	—

(1) hoeveelheid te klein om afgelezen te worden op de curve.

Besluit

De qualitatieve methoden gesteund op kleurreacties, als hoger beschreven, zijn niet gevoelig genoeg om dodelijke intoxicaties veroorzaakt door parathion, aan te tonen. De reactie met

N-α-naphtylethyleendiamine geeft daarbij reeds verkleuringen met extracten voortkomende van personen gestorven aan een natuurlijke dood, zelf na zuiveren over Atapulgus Clay als beschreven door Averell en Norris (3) voor plantenextracten. Deze diazoteerbare stoffen zullen dus ook een invloed hebben op de nitriet titratie van parathion beschreven door O'Keeffe en Averell (7), wat als resultaat zal hebben dat een te hoog gehalte aan parathion zal gevonden worden. De polarographische methode en de infra-rood spectrophotometrie zijn insgelijks niet gevoelig genoeg om het vergift aan te tonen. Enkel de biologische methode laat ons toe parathion in de extracten te bepalen en terzelfdertijd een quantitatieve uitslag te bereiken. Dit is des te gemakkelijker in het onderzoek opgegeven in de hoger vermelde tabel, daar een van de extracten (nier) niet de minste acetylcholinesterase activiteit vertoont. We vonden immers dat in sommige gevallen extracten, voortkomende van personen gestorven aan een natuurlijke dood, een werking vertonen (8).

De resultaten bevestigen nogmaals onze voorgaande gegevens (8), n.m. dat parathion niet gehydrolyseerd wordt in lijken, en de stof bij ontgravingen, zelfs na 3 jaar, kan aangetoond worden.

SAMENVATTING

Acute vergiftigingen met dodelijke afloop veroorzaakt met parathion konden slechts qualitatief en quantitatief aangetoond worden door gebruik te maken van de acetylcholinesterase werking. De colorimetrische polarographische en infra-rood spectrophotometrische bepalingen waren niet gevoelig genoeg om de stof aan te tonen. Er werd uitgemaakt dat parathion in lijkenmateriaal werd teruggevonden, zelfs bij ontgraving drie jaar na de dood; wat er op wijst dat de stof niet hydrolyseert in dergelijke omstandigheden. De nodige controleproeven met lijkenmateriaal werden daartoe uitgevoerd. Het groot aantal dodelijke ongelukken voortkomende met parathion moet er toe aanzetten de vrije verkoop van deze stof, en het verhandelen door onbevoegden, te beperken.

RÉSUMÉ

Limitations des déterminations chimiques toxicologiques du Parathion (E 605)

Des empoisonnements accidentels à denouement fatal dus au parathion ont pu être démontrés qualitativement et quantitativement en faisant usage de l'activité acethylcholinestérasique.

Les déterminations colorimétriques, polarographiques et spectro-photométriques par linfra-rouge, se soldèrent par un echec, du au manque de sensibilité des méthodes.

Nous avons démontré que le parathion a pu être retrouvé même après des exhumations datant de 3 ans après la mort. Nous concluons donc que ce produit n'est pas hydrolysé. Les tests de controle nécessaires ont été faits à cet effet. La grande fréquence d'accidents mortels résultant du parathion, nécessiterait une réglementation sévère concernant l'emploi et la distribution de ce produit.

SUMMARY

Limitations of the chemical toxicological determitation of Parathion

Fatal intoxications due to parathion were proved on a qualitative and quantitative basis using its anti-acetylcholinesterase activity, as the colorimetric, polarographic and infra-red spectrophotometric methods were not sensitive enough to demonstrate the presence of the poison. It is shown, that even three years after death occured, parathion could be detected following autopsy. The product therefore is not hydrolyzed during this time.

The large number of fatal accidents makes it necessary to restrict the free use of the poison.

LITERATUUR

1. HEYNDRICKX, A. — *Med. Landbouwhhogeschool Gent.* 1955, **20**, 517.
2. KETELAAR, J. A. A. en HELLINGMAN, J. E. — *Anal. Chem.* 1951, **23**, 646.
3. AVERELL, P. R. en NORRIS, M. V. — *Anal. Chem.* 1948, **20**, 753 .
4. DERKOSCH, J. en MAYER, F. X. — *Mikrochimica*, 1955, **2**, 495.
5. BOWEN, C. V. en EDWARDS, F. J. — *Anal. Chem.* 1950, **22**, 706
6. MORAND, L. en LABORIT, H. — Presse Medicale, 1947, 131.
7. O'KEEFFE, K. en AVERELL, P. R. — *Anal. Chem.* 1951, **23**, 1167.
8. VAN HECKE, W., HANS-BERTEAU, M., HEYNDRICKX, A. en THOMAS, F. — *Annales Médecine Légale*, 1955, **35**, 291.

A. Hallemans, Lint

V : Wat wordt verstaan door dode vruchten?

A : Het Bayer ,,Pflanzenschutz Compendium'' vermeldt dat parathion na enkele dagen afgebroken wordt in de groene plantendelen. Op vruchten, appelen, bv., treedt deze afbraak slechts op na 10 tot 14 dagen. Op dode vruchten en plantendelen (schors bvb.) kan de stof nog een werking vertonen zelfs na enkele maanden. Ik denk dat volgens deze schrijvers onder ,,dode vrucht'' verstaan moet worden, het afwezig zijn van het afbrekend enzymen.

D. Stegwee, Wageningen

V : Moet de parathion — Choline esterase-inhibitie curve niet geïnterpreteerd worden als weergevende het verband tussen paraoxon hoeveelheid in het parathion preparaat en Cholinesterase remming?
Parathion zuiver remt Choline esterase niet *in vitro* zoals ikzelf ondervonden heb.

A : Uw bevindingen dat parathion zuiver *in vitro* geen anti-acetylcholine esterase werking vertoont zijn in tegenspraak met het werk gepubliceerd door Giang, welke voor deze stof wel een werking heeft opgetekend. Deze onderzoeker heeft verder voor paraoxon, *in vitro*, een honderdvoudige activiteit ten opzichte van parathion gevonden. De opgegeven standaardcurve werd verkregen na extractie van het handelspreparaat ,,E 605 Forte Bayer'' (bevattende 50% actief bestanddeel); zodat de verkregen uitslagen der extracten voortkomende der lijkdelen van personen gestorven aan dit produkt, in overeenstemming te brengen zijn met de hoeveelheid ingenomen stof. Deze standaardcurve is dus een meer getrouwe weergave der intoxicatie, dan moest ze uitgevoerd geweest zijn met zuiver parathion.

Mme S. Van den Bruel-Dormal, Gembloux.

V : Dans le cas de la détection du parathion dans les cadavres après 3 ans, quel est le % d'inhibition de la cholinésteras des témoins? Quelle est l'erreur de la méthode ?

A : Le % de l'inhibition des témoins, dans ces cas, est en général de l'ordre de 10%, l'erreur de la méthode est de 5% environ. La discussion du probléme est mentionée dans l'article même.

J. De Wilde, Wageningen

V : Spreker ondersteunt de opmerking van Dr. Stegwee. Aan het Physiologisch

Laboratorium te Amsterdam is, door de onderzoekingen van Dr. **Stegwee** en Dr. **J. Walop** aangetoond, dat 99% zuiver parathion *in vitro* geen anticholinesterase werking bezit (preparaten door moleculaire destillatie vervaardigd door Prof J. J. A. Ketelaar). In Engeland hebben **Diggle** en **Gage** aangetoond, dat parathion na incubatie met rattenlever deze eigenschap verkrijgt. Onafhankelijk hiervan toonden **Walop** en **Kok** te Amsterdam aan dat incubatie met het vetlichaam van insecten hetzelfde resultaat heeft.
Onderzoek van **Celyers, Gersman** e.a. hebben door vergelijking van activiteit een dosering waarschijnlijk gemaakt, dat *in vivo* uit Parathion, Paraoxon ontstaat, en dat deze laatste stof aansprakelijk is voor de anticholinesterase werking.
Het is op grond hiervan niet te verwonderen, dat men na Parathion vergiftiging in sommige gevallen chemisch of physisch geen Parathion meer kan aantonen. Alleen bij overmaat Parathion zal dit het geval zijn.
Bij proeven na vergiftiging *in vivo* dient men in aanmerking te nemen, dat een deel van het Parathion in gebonden vorm in de weefsels aanwezig kan zijn, zodat men in homogenaten een sterker anticholinesterase remming kan waarnemen dan *in vivo* het geval is geweest bij proeven van **Walop**, Amsterdam).

A : Ik denk dat mijn antwoord aan een van de vorige toehoorders gegeven, reeds een gedeelte van uw vraag beantwoordt. Wat uw zienswijze aangaat, dat door de omzetting van parathion tot paraoxon in het organisme, chemisch en physisch geen parathion meer kan aangetoond worden, alleen wanneer een grote overmaat parathion aanwezig zal zijn, moet ik zeggen dat ik deze zienswijze geenszins kan bijtreden. De chemische identificatie is immers gesteund op de eigenschappen van het p-nitrophenol gedeelte van het molecule, radicaal dat zowel parathion als paraoxon bevat. De physische bepalingsmethoden, als polarographie en infraroodspectrometrie, geven dezelfde uitslag voor beide stoffen. Zodat, moest in het organisme al dan niet alle parathion tot paraoxon zijn omgezet, het voor de physico-chemische bepaling geen verschil uitmaakt.
Wat het binden van parathion in de weefsels betreft, verwijs ik naar de tabel dat het gehalte voor verschillende organen opgeeft, Ik zie echter niet in hoe een extract voortkomende van de lever, een andere activiteit zou hebben, dan een extract voortkomende van dezelfde lever maar gepreleveerd in een ander gedeelte. Ik denk niet dat de stof in een zelfde orgaan op verschillende plaatsen in verschillende verhoudingen kan aanwezig zijn.

GLOEOSPORIUM-VRUCHTROT BIJ APPELS (1)

door

Prof. Dr. A. J. P. Oort

Laboratorium voor Phytopathologie, Landbouwhogeschool, Wageningen

Inleiding. De laatste jaren worden in Nederland in toenemende mate klachten vernomen over het optreden van vruchtrot tijdens de bewaring van appels. Uit de beschikbare gegevens blijkt dat men veelal met verliezen van 5-20% rekening moet houden, terwijl in sommige jaren en bij sommige rassen verliezen van 50% of meer geen zeldzaamheid zijn. De rassen die het meest aangetast worden zijn Golden Delicious, Jonathan en Laxton Superb. Omtrent de oorzaak van dit in toenemende mate voorkomen van vruchtrot tast men nog in het duister; vermoedelijk is het lang rekken van de bewaring als gevolg van het streven om gedurende het gehele jaar over appels te kunnen beschikken, één van de oorzaken. Anderzijds kan ook de omschakeling op nieuwe rassen, die wellicht vatbaarder zijn een rol spelen.

Niet alleen in Nederland, maar ook in Engeland veroorzaakt vruchtrot veel schade (Wilkinson, 1954; Corke, 1955 en Edney, 1956).

De oorzaak van vruchtrot. Uit het onderzoek verricht aan in koelhuizen bewaarde appels is gebleken dat vooral Gloeosporium soorten vruchtrot te weeg brengen, terwijl Penicillium en andere schimmels in veel geringere mate worden gevonden. Dit komt overeen met de ervaring van Wilkinson (1954) in Engeland. Uit een onderzoek van vruchten uit verschillende boomgaarden en behorende tot verschillende rassen van oogst 1955 bleek dat drie Gloeosporium soorten voorkomen.

1. *Gloeosporium perennans* Zeller & Childs. Van deze soort kunnen naar de grootte van de conidiën twee vormen onderscheiden worden.

(1) Het onderzoek werd verricht in samenwerking met het Instituut voor Bewaring en Verwerking van Tuinbouwproducten te Wageningen en verschillende Tuinbouwconsulentschappen. Bij het verrichten van de waarnemingen werd vooral veel hulp ontvangen van de Heren J. Wezenberg, D. C. M. Boonman, P. Kleiburg en T. Kouwenhoven, studenten aan de Landbouwhogeschool.

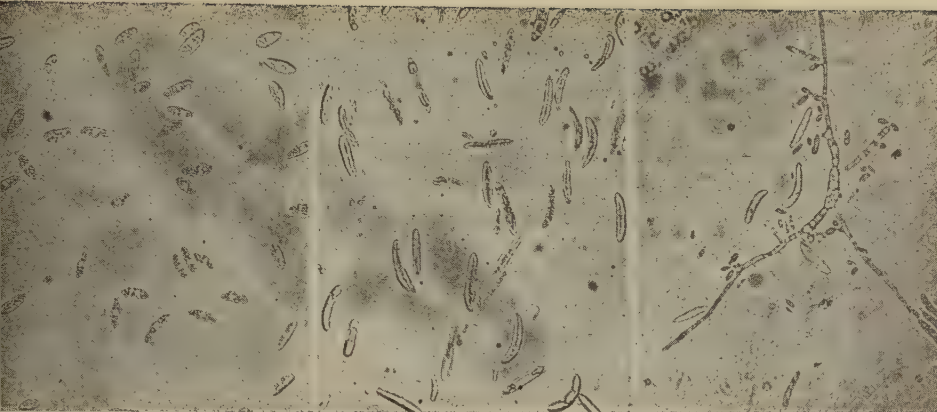
a) met sporenafmetingen variërende tussen 7.2-20.0 × 3.0-6.4 μ. en een gemiddelde van 13.6 × 4.0 μ (Fig. 1). De afmetingen werden bepaald aan een groot aantal vruchten afkomstig van verschillende rassen en boomgaarden, waarbij de onderlinge variatie gering bleek te zijn. De sporenmaten stemmen ongeveer overeen met die door Wilkinson (1954) voor perennans opgegeven, nam 4.5-21 × 2.5-4.5 μ. en een gem. van 12.5 × 3.0 μ. Deze vorm zal als de normale worden aangeduid. Bij de inoculatieproeven werd een isolatie van deze vorm gebruikt.

b) een grootsporige vorm met sporenafmetingen van 16.4-28.0 × 3.6-6.8 μ, gemiddeld 21.5 × 5.1 μ. De sporen zijn iets slanker dan bij de normale vorm en soms licht gebogen, waardoor zij enige gelijkenis vertonen met die van Gl. album. De kieming van de conidiën verloopt geheel als bij de normale perennans, onder afsnoering van talrijke microconidiën (Fig. 2 en 3). De grootsporige vorm werd tot nog toe in een 5-tal boomgaarden op verschillende rassen aangetroffen; deze vorm is veel minder algemeen dan de normale. Overgangen tussen de beide vormen werden niet gevonden. Of deze vorm zich in pathogeniteit onderscheidt zal nog nader onderzocht worden.

2. *Gloeosporium album* Osterw. De sporenmaten werden verkregen van een aantal vruchten van verschillende herkomst en ras en waren 16.5-29.0 × 3.2 × 4.0 μ. met een gemiddelde van 22.5 × 3.7 μ. De soort is gemakkelijk aan de slanke en meer of minder gebogen sporen te herkennen (Fig. 4). Het kiemycelium vormt geen microconidiën.

3. *Gloeosporium fructigenum* Berk. Deze soort die door afmetingen van de conidiën en vooral door de vorming van een appressorium gemakkelijk te onderscheiden is, werd slechts in één boomgaard gevonden en zal hier verder buiten bespreking blijven (Fig. 5).

In het volgende overzicht (Tabel 1) wordt voor een twaalftal boomgaarden vermeld hoe vaak de verschillende Gloeosporiumsoorten werden aangetroffen. In de onderste regel wordt een samenvatting gegeven van de tot dusverre verkregen gegevens van 24 boomgaarden. Uit dit overzicht blijkt dat zowel *Gloeosporium perennans* (normaal) als *album* algemeen voorkomen, waarbij *perennans* iets domineert. Hoewel de gegevens slechts op een gering aantal waarnemingen berusten zou uit die betreffende het ras Jonathan de conclusie getrokken kunnen worden dat er boomgaarden zijn, waarvan de vruchten uitsluitend door *Gl. perennans* aangetast worden, andere waar alleen *Gl. album* en weer andere waar beide soorten naast elkaar voorkomen. Dit wijst niet op een bepaalde voorkeur van één van beide Gloeosporium soorten voor



1. Gl. perennans
(normale vorm).

1. *Gl. perennans*
(normal form).

2. Gl. perennans
(grootsporige vorm).

2. *Gl. perennans*
(large-spored form).

3. Gl. perennans
(grootsp.) kiemend.

3. *Gl. perennans*
(large-sp.) germinating.

4. iGl. album.

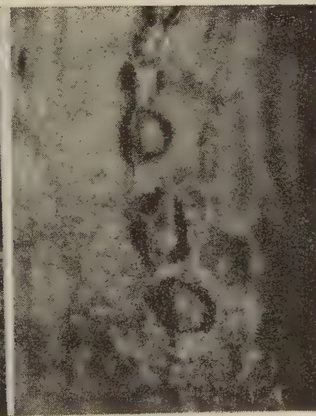
4. *Gl. album.*

5. Gl. fructigenum.

5. *Gl. fructigenum.*

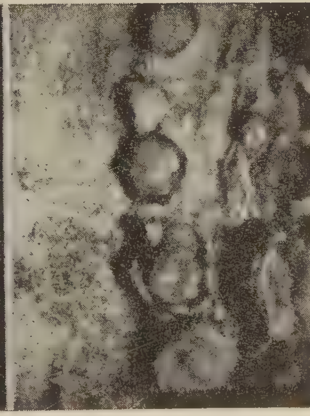
6. Acervuli, nog door de
schors bedekt.

6. *Acervuli, still under*
the bark.



7. Acervuli
in droge toestand.

7. *Acervuli*
under dry conditions.



8. Dezelfde acervuli
in vochtige toestand.

8. *The same acervuli*
under moist conditions.

TABEL 1 — TABLE 1

Waarnemingen over het voorkomen van Gloeosporium-soorten op vruchten van verschillende herkomst en ras

Observations on the occurrence of Gloeosporium species on fruits of different localities and varieties

Boomgaard — ras *Orchard — variety*	Aantal vruchten met Gloeosporium *Number of fruits with Gloeosporium*			
	perennans		album	fructigenum
	normaal	grootsporig*		
Jonathan	20	—	—	—
Present van Engeland....	16	—	—	—
Franse zure	11	—	—	—
Jonathan	18	2	—	—
Jonathan	13	4	—	—
Goudreinet	6	8	2	—
Golden delicious	12	—	1	—
Laxton Superb	2	—	7	—
Jonathan	3	—	22	—
Laxton Superb	—	—	12	—
Jonathan	—	—	7	—
Bramley's Seedling	—	—	4	2
Totaal vruchten uit 24 boomgaarden ...... *Total from 24 orchards...*	139	16	94	2

(*) large-spored form.

bepaalde rassen, maar wel op een mogelijke voorkeur voor bepaalde boomgaarden.

In de beide boomgaarden, die bij het verdere onderzoek ter sprake komen was het voorkomen van Gloeosporium op de vruchten als volgt.

	Aantal vruchten met Gloeosporium	
	perennans (norm.)	album
Golden Delicious — Betuwe.......	84	12
Golden Delicious — Zuid-Beveland	10	13

Deze gegevens zijn niet opgenomen in tabel 1.

Waarnemingen over het voorkomen van Gloeosporium in de boomgaard. Uit talrijke elders verrichte onderzoekingen is gebleken dat de vruchten reeds in de boomgaard worden geïnfecteerd. De infectiebronnen kunnen takkankers zijn, maar vaak ook instervingen van tak uiteinden. De eerste vorm van aantasting is in ons land verscheidene malen gevonden, maar het algemeen voorkomen van Gloeosporium op vruchten kan hiermee lang niet verklaard worden. Twijginstervingen komen in elke boomgaard algemeen voor maar tot nog toe zijn hierop — vermoedelijk als gevolg van een niet voldoende nauwkeurig waarnemen — de fructificaties van Gloeosporium niet gevonden, zodat nog niet vast staat of deze instervingen aan takuiteinden of bij snoeiwonden een gevolg zijn van Gloeosporium, dan wel een andere oorzaak hebben. In Engeland is Edney (1956) er wel in geslaagd ,,with relative ease'' op bomen infecties te vinden, wanneer de aantasting van de vruchten 10% of hoger was geweest. Volgens Edney wordt ook waterlot, dat door luizen beschadigd is, gemakkelijk geïnfecteerd, terwijl hij en ook Wilkinsin (1955) nog in het bijzonder wijzen op infecties van snoeiwonden.

Uit inoculatieproeven te Wageningen van Maart tot en met Nov. 1955 om de 3-4 weken op het ras Schone van Boskoop uitgevoerd bleek dat zowel *Gl. perennans* (één isolatie van de normale vorm) als *Gl. album* (één isolatie) gedurende deze periode takkankers kunnen veroorzaken. De inoculatie vond plaats met mycelium dat in een tot op het cambium doorlopende snijwond werd aangebracht. De geïnoculeerde plaatsen werden gedurende een aantal weken ingehuld om uitdroging van de wond te voorkomen. De inoculaties werden op 1-3 jarige takken verricht; uit de resultaten bleek geen voorkeur voor takken van bepaalde ouderdom. Het aantal geslaagde infecties was bij *Gl. album* duidelijk geringer terwijl ook de uitbreiding minder ver doorging. Het infectiebeeld was evenwel niet te onderscheiden van dat van *Gl. perennans*. Dit is enigszins in tegenspraak met de gegevens van andere onderzoekers, die *Gl. album* meestal alleen saprophytisch hebben waargenomen en aan deze schimmel slechts bij uitzondering een zwakke parasitaire activiteit toeschrijven. Uit de bovenstaande inoculatieproeven mag niet de conclusie getrokken worden dat natuurlijke infecties gedurende het gehele jaar plaats vinden (vgl. Corke, 1955), de proeven waren veel meer bedoeld om de optredende symptomen te bestuderen. Op de aangetaste plekken ontstonden na geruime tijd (1-2 maanden) acervuli (Fig. 6, 7 en 8), die bij vochtig weer in groten getale conidiën produceerden.

Enkele inoculaties — zowel met mycelium als met conidiën — uitgevoerd op twijguiteinden waarvan de top was afgesneden, hadden een soms ver voortschrijdend insterven ten gevolge.

Gelijktijdig uitgevoerde inoculaties met *Gl. fructigenum* toonden aan dat deze schimmel zich niet in het levende weefsel uitbreidt. In het als gevolg van de gemaakte wond afgestorven weefsel groeide de schimmel blijkens de in enkele gevallen gevonden acervuli wel.

Vruchtrot als maatstaf voor het optreden van Gloeosporium in de boomgaard. Behalve van directe waarnemingen over het voorkomen van Gloeosporium in de boomgaard kan men ook gebruik maken van het tijdens de bewaring optredende percentage rot. Men zal er evenwel rekening mee moeten houden dat de mate van rot niet alleen afhangt van de mate van infectie in de boomgaard, maar ook van de physiologische toestand van de vruchten. Uit het onderzoek van Edney (1956) blijkt dat deze laatste factor van groot belang is en bij vergelijking van de uitkomsten van boomgaarden onderling niet verwaarloosd mag worden.

Uit de vele gegevens van proefnemingen betreffende pluktijd, toepassing van bestrijdingsmiddelen, enz. verzameld door het Instituut voor Bewaring en Verwerking van Tuinbouwproducten te Wageningen kan het volgende afbeleid worden :

1. De plaats van de vruchten aan de boom. Appels boven in de boom worden veel minder aangetast dan die onder in de boom, zoals blijkt uit twee waarnemingen bij Golden Delicious, waarbij de vruchten afkomstig van de bovenste helft 1.1 resp. 14.0%, die van het onderste deel van de boom 13.8 resp. 50.4% rot vertoonden. Dit is begrijpelijk omdat als gevolg van de verspreiding van de conidiën door regen de kans op infectie onder in de boom veel groter is dan bovenin.

2. Het tijdstip van plukken. In het algemeen treedt bij vruchten van de eerste pluk aanzienlijk minder rot op, dan bij die van de tweede pluk. Zo werd in twee gevallen bij Golden Delicious bij appels van de eerste pluk 0.3 en 7.6% rot, bij die van de tweede pluk 10.8 en 36.3% rot waargenomen. Ook bij doorpluk is het percentage rot tijdens de bewaring vaak laag. De verschillen in pluktijd zijn evenwel niet altijd zo groot als bij de hierboven versmelde gevallen. Vermoedelijk spelen de weersomstandigheden tussen het begin en het eind van de pluk een grote rol, terwijl ook de physiologische toestand (relatieve vatbaarheid) bij verschillende pluktijden kan uiteenlopen.

3. De verdeling van Gloeosporium over de boomgaard. Uit de vrij grote tot grote variatie die tussen de herhalingen van een object optreden blijkt dat de verdeling van Gloeosporium

over een boomgaard zeer ongelijkmatig is of althans dat de infectiekans buitengewoon kan variëren. Dit wordt mede bevestigd door waarnemingen aan praktijkpartijen in het koelhuis gedaan, waarbij blijkt dat zich onder een overigens gezonde of vrijwel gezonde partij soms één of enkele kisten met appels bevinden die zwaar aangetast zijn door Gloeosporium-rot.

De vaak onduidelijke of tegenstrijdige resultaten die men bij bestrijdingsproeven verkrijgt, moeten vermoedelijk voor een groot deel aan de grilligheid van de verdeling van Gloeosporium toegeschreven worden, deels ook aan onbekendheid met de tijdstippen waarop infectie optreedt (zie onder). Om iets te weten te komen over deze verdeling zullen blanco proeven genomen moeten worden. Het ligt in de bedoeling in 1956 een aantal van dergelijke proeven op te zetten.

4. Optreden van rot bij vruchten afkomstig van verschillende boomgaarden. Uit verschillende praktijkervaringen blijkt dat er boomgaarden zijn, waarvan de vruchten bij de bewaring regelmatig veel rot vertonen en dus slechts houdbaar zijn en andere, waarvan de vruchten weinig of niet aangetast zijn. Men moet aannemen dat — naast een uiteenlopende kans op besmetting — de physiologische toestand (relatieve vatbaarheid) van de vruchten van boomgaard tot boomgaard verschilt. Welke factoren van het complex bodem, bemesting, cultuurmethode en cultuuromstandigheden deze physiologische toestand bepalen is nog geheel on-

Fig. 9. — Ingehulde vruchten, tweede helft Juli, boomgaard te Wemeldinge (Zd. Bevel.).

Bagged fruits, second half of July, orchard at Wemeldinge (prov. of Zeeland).

bekend. Wellicht zal een gedurende een aantal jaren voortgezette enquête met betrekking tot ,,vruchtrot-boomgaarden'' en ,,gezonde boomgaarden'' enig licht kunnen werpen op dit vraagstuk.

Het tijdstip van infectie van de vruchten. Voor een doelmatige toepassing van bestrijdingsmiddelen is een bepaling van het tijdstip of de tijdstippen waarop de vruchten geïnfecteerd worden van groot belang. Om hierover iets te weten te komen werd in 1955 in de Betuwe en op Zuid-Beveland een proef genomen met het inhullen van vruchten. Daartoe werden begin Juli een groot aantal vruchten van polyaethyleen manchetten voorzien, die boven rondom de vruchtsteel dichtgevouwen en met een wasknijper vastgezet werden, en onder open bleven. (Fig. 9). De proef in de Betuwe (bedrijf van de Heer van Riemsdijk te Buren) bestond uit 11 objecten, waarvan 1 als controle niet ingehuld werd; die op Zuid-Beveland (bedrijf van de Heer Dekker te Wemeldinge) bestond eveneens uit 11 objecten, waarvan 1 niet ingehuld

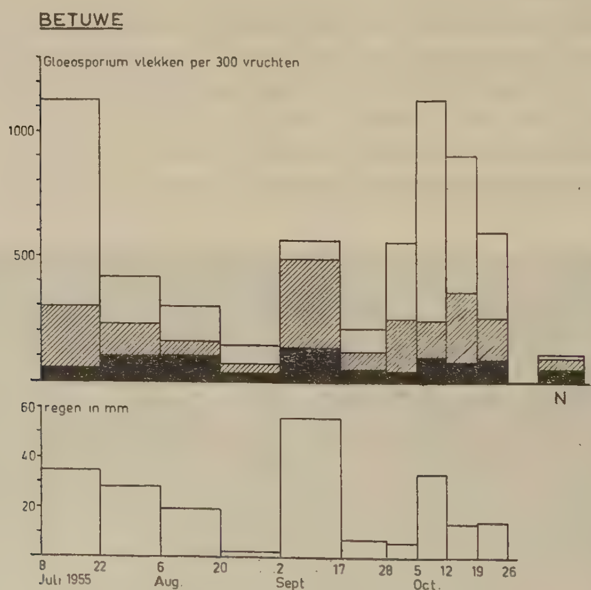


Fig. 10. — Resultaten van inhulproef, boomgaard te Buren (Betuwe). Ras Golden Delicious.
■ |||| □ aantal Gloeosporium-vlekken per 300 vruchten op 20 januari, 8 februari en 2 maart. N niet ingehuld (contrôle).
Regenval volgens metingen te Geldermalsen.

Results of bagging experiment, orchard at Buren (prov. of Gelderland). Variety Golden Delicious.
■ |||| □ *number of Gloeosporium spots per 300 fruits on 20 January, 8 February and 2 March. N not bagged (control). Rainfall according to data from Geldermalsen.*

werd (controle) en 1 gedurende de gehele periode van begin Juli tot aan de pluk ingehuld bleef. De vruchten van de overige objecten (resp. 10 en 9) werden gedurende een korte periode onthuld en daarna weer ingehuld op zodanige wijze dat vanaf het begin van het inhullen tot de pluk steeds één object onthuld was en alle andere ingehuld. De duur van een dergelijke periode varieerde van 7-15 dagen. Elk object bestond uit 6 herhalingen, die over de boomgaard verspreid lagen, elke herhaling uit 50 vruchten op één boom. Elke proef bestond dus uit 11 × 300 = 3300 vruchten. Het ras was Golden Delicious.

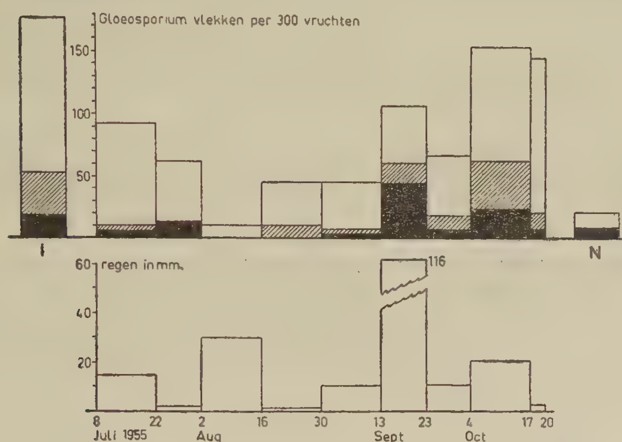


Fig. 11. — Resultaten van inhulproef, boomgaard te Wemeldinge (Zuid-Beveland). Ras Golden Delicious.
■ |||| □ aantal Gloeosporium-vlekken per 300 vruchten op 19 januari, 8 februari en 1 maart. I ingehuld gedurende gehele periode, N. niet ingehuld. Regenval volgens metingen te Kapelle.

Results of bagging experiment, orchard at Wemeldinge (prov. of Zeeland) Variety Golden Delicious.
■ |||| □ *number of Gloeosporium spots per* 300 *fruits on* 19 *January,* 8 *February and* 1 *March. I. bagged during the whole period, N. not bagged. Rainfall according to data from Kapelle.*

De vruchten ontwikkelden zich in de hulsels op het oog normaal, bij uitzondering trad in een enkel geval zonnebrand op. Wel bleek bij een waarneming gedurende de laatste groeiperiode dat de lenticellen een woekering vertoonden, die bij niet ingehulde vruchten niet voorkwam. Blijkens druppelafzetting op de hulsels was de luchtvochtigheid binnen de hulsels hoog, vooral boven de vruchten, waar onvoldoende verdamping mogelijk was. Onder de vruchten was de condensatie minder sterk, behalve in die gevallen, waar de hulsels geheel of gedeeltelijk waren dichtgeklapt.

Na de oogst werden de vruchten van beide proeven onder gelijke omstandigheden in een koelcel van het I.B.V.T. opgeslagen Vanaf Januari werden de vruchten ongeveer om de 3 weken op Gloeosporium aantasting gecontroleerd. Daarbij werd zowel het aantal aangetaste vruchten als het aantal Gloeosporium vlekken geteld. De herhalingen van één object varieerden nogal sterk, hetgeen ten dele een gevolg kan zijn van het geringe aantal vruchten per herhaling, maar vooral van een ongelijkmatige verdeling in Gloeosporium in de boomgaard (zie boven). De volgende grafieken (Fig. 10 en 11) geven de resultaten van de beide proeven weer te samen met de gegevens betreffende de regenval gedurende elke ,,onthul'' periode, volgens metingen van nabij gelegen stations van het Kon. Ned. Meteorol. Inst. Uit deze grafieken blijkt :

1. dat tegen de verwachting de aantasting bij de niet ingehulde controles bij beide proeven in het algemeen aanmerkelijk geringer was dan van een van de andere objecten.

2. dat het voortdurend ingehulde object (alleen bij de proef op Zuid-Beveland) tegen de verwachting in de hoogste aantasting heeft.

3. dat er voor de proef in de Betuwe en voor de tweede helft van de proef op Zuid-Beveland een verband bestaat tussen regenval en aantasting, zodanig dat blootstelling van de vruchten in een periode van grotere regenval de aantasting doet toenemen.

4. dat de aantasting van vruchten uit de Betuwe veel sterker is geweest dan die van Zuid-Bevelandse vruchten. Een zo groot verschil werd niet verwacht, aangezien de oogst van het voorafgaande jaar in beide gevallen sterk door vruchtrot was aangetast. De onverwachte resultaten onder 1 en 2 genoemd tonen aan dat inhulling de vruchten vatbaarder maakt. Dit staat waarschijnlijk in verband met de sterke ontwikkeling en het meer open zijn van de lenticellen in een vochtige omgeving (vgl. ook Edney, 1956).

Dat de vruchten die van begin Juli af tot aan de pluk ingehuld zijn geweest veel rot vertonen is moeilijk te verklaren. De infectie moet of voor de inhulling, dus op een zeer vroeg tijdstip reeds hebben plaats gehad of er moet tijdens de inhulling nog infectie hebben plaats gevonden. Lekkage van regenwater met sporen langs de vruchtsteel behoort tot de mogelijkheden, maar is niet zeer waarschijnlijk. Eerder moet men rekening houden met een vroegtijdige besmetting van de vruchten. Edney heeft aangetoond dat op takuiteinden, die op 1 Mei waren geïnoculeerd op 12 Juni reeds sporen waren gevormd en dat de sporen in grote getale konden worden opgevangen bij hevige regenval van 20 Juni af tot midden September. De inhulproeven hebben wel aangetoond

dat er een verband bestaat tussen regenval en aantasting, anderzijds kan men er niet uit concluderen op welke tijdstippen men zou moeten spuiten om de infectiekansen te verminderen.

Enige waarnemingen en resultaten van proeven werden hierboven beschreven. Hieruit blijkt dat wij nog slechts weinig weten over de levenscyclus van Gloeosporium en over de omstandigheden waarbij deze schimmel schadelijk wordt. Nog veel nauwkeurig onderzoek zal nodig zijn om het zo belangrijke probleem van het Gloeosporium vruchtrot op te lossen.

SUMMARY

Gloeosporium-rot of apples

Gloeosporium fruit rot forms a serious problem during the storage of apples in cold storage houses. Especially the varieties Golden Delicious, Jonathan and Laxton Superb are very susceptible. Two Gloeosporium species, viz. perennans and album were found on different apple varieties from different origin. Of Gloeosporium perennans a form with large spores was observed in some cases (Figs. 1-5). It is striking that in some orchards Gloeosporium perennans prevails and in others Gl. album (Table 1).

From inoculation experiments (mycelium infections in wounds) it appears that Gloeosporium perennans and to a less severe extent also Gloeosporium album can cause branch cancers on which acervuli occur after 1-2 months (Figs. 6-8). The natural cancers observed in some cases cannot explain the general occurrence of Gloeosporium rot; however, other sources of infections have not been found so far.

From data collected by the Institute for Research on Storage and Processing of Horticultural Produce (I.B.V.T.) the following points can be stated :

1. Apples from the upper part of a three are less heavily attacked than those from the lower part.
2. At the second picking more rot occurs than at the first harvest or in the case of continual picking.
3. The distribution of Gloeosporium over an orchard is very irregular. Of a batch which is more or less healthy, sometimes only one or some few boxes of apples are heavily damaged. The anomalous or contradictory results of control trials have to be partly attributed to the capriciousness in the distribution. Blank trials will be conducted in order to ascertain the distribution.

4. The mutual differences between the orchards are often very great, so that it is possible in some cases to speak of ,,fruit rot orchards'' and ,,healthy orchards''. An inquiry will be made into the causes of this phenomenon.

From two experiments (Figs. 9-11) in which fruits were enveloped in polyaethylene bags, it appeared that there is a certain relationship between the precipitation and the chance of an infection. It is conspicuous that the bagging greatly enhances the susceptibility of the fruits. The result is that non-bagged fruits (control) showed the least attack of Gloeosporium rot, whereas the fruits which had been bagged during the whole experimental period until the harvest, showed the heaviest attack of Gloeosporium fruit rot.

LITERATUUR

CORKE, A. T. K. — 1955. Bitter rot of apples. I. Branch inoculations with Gloeosporium perennans and G. album. Ann Rep. Long Ashton, Res. Sta for 1954, p. 164

EDNEY, K. L. — 1956. The rotting apples by Gloeosporium perennans **Zell & Childs**. *Ann. Appl. Biol.* 44 : 113-128.

WILKINSON, E. H. — 1954. Fungal rots of apples with special reference to Gloeosporium spp. *Ann. Appl. Biol.* 41 : 354-358.

Voor verdere literatuur zie bovenstaande publicaties.

J. C. Mooi, Wageningen

V : Is het mogelijk door kunstmatige inoculatie van appels met Gloeosporium spec. verschil in vatbaarheid te constateren tussen vruchten van hetzelfde ras maar van verschillende boomgaarden?

A : Uit het onderzoek van **Edney** kan afgeleid worden dat er verschil in vatbaarheid bestaat tussen vruchten van het zelfde ras die onder verschillende omstandigheden zijn gegroeid.

W. Graafland, Baarn

V : Is infectie van gezonde vrucht vanaf zieke vrucht tijdens de bewaring mogelijk?

A : Dit is niet aangetoond en minder waarschijnlijk omdat de sporen door regen worden verspreid.

W. H. Dalmeijer, Hilversum

Vestigt er de aandacht op dat bij *Gl. olivarum d'Alm.* op olijf geïrrigeerde boomgaarden zware aantasting der olijven vertonen, de droge niet.

PRESENT STATUS OF GRISEOFULVIN AS A PLANT PROTECTANT

by

A. H. Campbell.

Glaxo Laboratories Ltd. — Sefton Park — Stoke Poges — Bucks

Introduction

For some time now we have been isolating and characterisating of antibiotics of potential usefulness against fungal plant pathogens. From a number of contenders, griseofulvin was chosen for intensive development as it appeared to have the best combination of desirable properties.

Griseofulvin was originally discovered and isolated by Oxford, Raistrick and Simonart (1) in 1939, as a metabolic product of *Penocillium griseofulvum* Dierckx. In 1946, the antibiotic ,,curling factor'' produced by *Penicillium janczewskii* was isolated by Brian, Curtis and Hemming (2) and a year later Grove and McGowan (3) showed it to be identical with griseofulvin. The chemical structure was finally established by Grove, Ismay, Macmillan, Mulholland and Rogers (4) in 1951.

The biological activity of griseofulvin was first studied by Brian (5) who concluded that it profoundly affected the morphogenesis of many fungi. Later, Brian, Wright, Stunbs and Way (6) showed that it possessed undoubted activity as a systemic agent for controlling some fungal plant pathogens. However, despite the great need for systemic antifungals, it was decided that griseofulvin would be too expensive for use in agriculture.

In recent years there has been a great increase in the output of antibiotics with sharp reductions in price attributable to advances in fermentation techniques. Against this background. it seemed worthwhile to re-examine the problems of producing griseofulvin for agricultural use. This has now been done and a highly efficient process is available. Ample supplies are assured for use in whenever can be shown to have advantages over existing fungicides.

Biological properties of griseofulvin

The action of griseofulvin upon fungal hyphae, exhibited by excessive branching, distortion and spiral curling, is sufficiently well known to dispense with a further account here. There are, however, other properties of interest to the plant pathologist about which little has so far been published. In a series of papers Brian (7), Stubbs (8), Crowdy et al. (9), Stokes (10), Crowdy and Pramer (11, 12), showed that griseofulvin applied in solution to the roots was distributed through the plant. Pure griseofulvin was recovered from extracts of tops of root-treated broad bean plants. In some recent work, we have shown that after applying chlorine-36 labelled griseofulvin to the leaves, the antibiotic is distributed throughout all parts of the plant, including the roots. There is thus ample evidence that griseofulvin is systemic in a wide range of plants.

In our experience griseofulvin is non-phytotoxic when used as foliage sprays, soil adjuvants, or soil drenches or by atomisation.

An important property in these days of preoccupation with toxic residues from plant protectants is that griseofulvin has no general toxic action in mammals. We have shown that doses up to 30 grams per kilogram body weight can be given orally to small laboratory animals, without any untoward reaction. We do not in fact, know the oral toxic dose, as the experiments were discontinued when large amounts had been given over lengthy periods to rats, mice and guinea-pigs without causing a single death. No skin irritation or other reaction has been observed in handling the pure antibiotic. Tests for eye irritancy in rabbits, by applying a 0.1% solution of griseofulvin, gave no signs of irritation or inflammation. The Ministry of Agriculture, Fisheries and Food Advisory Committee on Poisonous Substances used in Agriculture and Food Storage has approved the use of griseofulvin for treating crops.

To the negligible plant and mammalian toxicity, systemic distribution and the antifungal action must be added exceptional stability, a combination of proportios of obvious potential value for plant protection. It should be appreciated that the exact way in which griseofulvin acts against fungi is not yet fully understood, but that it is a fungistatic rather than fungicidal. It is likely, therefore, to be less effective when an eradicating action is the primary requirement.

Griseofulvin as a plant protectant

So far we have had only a single season to explore the possible uses of griseofulvin. The findings I am reporting today must be regarded as only preliminary, but I think that the display

of such an unusual range of activity will be of interest to you. I shall refer to the use of griseofulvin against ,,club root" in Brassicae (*Plasmodiophora brassicae*), ,,*Botrytis*" diseases of bulbs and lettuce, powdery mildews of chrysanthemums, strawberries and cucumber and ,,stem-rot" and ,,die-back" of carnations.

The experiments on the control of club root have been carried out by Dr. F. T. Last (13), Rothamsted Experimental Station, on cabbages grown in a mixture of non-sterile soil and sand. The seedlings, ten per pot, were transplanted from moist filter paper when about four days old and finally harvested after eight weeks. At transplanting the soil was inoculated with spore suspensions of *Plasmodiophora brassicae* and griseofulvin was applied as a dust to the surface.

Some of Dr. Last's results are shown under :—

Fresh weight of clubs (g.)

Inoculum	Control	Percentage griseofulvin in dust applied to soil surface			
		0.01%	0.1%	1,0%	10.0%
High	10.93	9.64	9.18	6.93	2.80
Low	9.49	4.49	1.43	0.27	0.00
Fresh weight of shoots (g.)					
High	26.50	30.83	34.77	37.00	34.57
Low	32.70	39.10	42.33	40.87	42.17

	Foliage	Clubs
Control — no griseofulvin................	28.5	11.5
Griseofulvin applied at inoculation.........	34.0	3.2
Griseofulvin applied 3 weeks after inoculation	37.7	3.2

The results illustrate two distinct points :—

a) There is a strong interaction between the concentrations of inoculum and griseofulvin. Although inoculum ,,High" was 624 times more concentrated than ,,Low," its effect on the development of clubs was little different from that of ,,Low" in the absence of griseofulvin. In the presence of griseofulvin, however, there was a large effect of inoculum concentration.

b) Griseofulvin can retard club root development even when applied three weeks after inoculation. The retardation in club development is associated with an increase in the weight of foliage

This favourable indication is now being intensively examined, both at Rothamsted and in field trials by our own staff.

By *in vitro* tests, the *Botrytis* species is amongst the most sensitive of all fungi to griseofulvin. Concentrations as low as 1 p.p.m. induce morphological changes and partial growth inhibition. In one of the plot trials so far carried out, we have shown that both sprays and dusts significantly reduce infection rate in tulip fire, caused by *Botrytis tulipae.* Aytoun (14) has shown in a simple laboratory experiment how griseofulvin may exercice its protective effect against this pathogen. Using Darwin tulips watered with dilute griseofulvin solutions and untreated controls, he showed that the inoculation of the beheaded flower stalk with *Botrytis tulipae* resulted in the fungus penetrating about 30 mms. down the stalk in the untreated bot only 2-3 mms. in the griseofulvin watered plants. Microscopic examination of longitudinal sections of the flower stalk in the untreated plants showed rapid proliferation of the fungal hyphae which, moving down the stalk, leave behind complete cellular disintegration. On the other hand, sections from the treated plants showed that, though the spores had germinated and hyphae occupied the damaged cells at the cut surface, their advance was halted at the first or second transverse walls of the cells they encountered. Few hypae were found beyond the first row of cells, and these appear to have grown through the intercellular speces. The hyphae trapped in cells showed curling and stunting phenomena, which suggested that the concentration of griseofulvin within the plant was at least 1 ug./ml. while biological assay of extracts from similarly treated tops recorded 2-3 ug./gm. fresh weight.

An opportunity occured this spring to examine the possible protective effect of griseofulvin against *Botrytis* on glasshouse lettuce. We found that the reduced loss of lettuce on griseofulvin treated plots was highly significant and in one nursery at least, economically most satisfactory. There the treatments, with 3% griseofulvin dust, were given twice to the plants in boxes at a rate of approximately 7 lbs. of dust per acre of plants. After planting out there were two further applications at the rate of 20 lbs. per acre. In all, the total dusting was at the rate of 54 lbs. dust per acre, containing 1.62 lbs. (735.5 grams) of crystalline griseofulvin.

A number of powdery mildews appear to be controlled by griseofulvin, including strawberry, cucumber and chrysanthemum mildews. Excellent control of the latter was obtained on the variety

,,Meteore'' under commercial conditions with four applications of a 0.044% griseofulvin spray.

Some preliminary results on the use of griseofulvin on commercial crops of carnations have been reported by Rhodes (15) who used a 1,5% foliage dust, a 0.044% foliage spray or a dilute solution applied to the roots. Evidence from the first year's work suggests that griseofulvin may be of use in the control of *Alternaria dianthi* and *Fusarium culmorum* but another season's results will be needed to confirm this.

An unexpected feature of these trials was the more vigorous growth observed in the plants after griseofulvin treatment. Thus, for example, six beds (150 feet by 3 feet) of first year carnation plants, which were given three applications of griseofulvin during the growing season, responded by earlier establishment of the rooted cuttings, earlier breaks and a marked earliness in flowering. Counts of blooms ready for cutting on the first day on wich a bed of a given variety was ready for harvest is shown in the following table.

Effect of griseofulvin treatment on earliness of flowering in first year glasshouse carnations

(N.B. No results were obtained on total yield)

Variety	Count of blooms ready for cutting made immediately before first day's harvest of a given variety	
	Untreated beds (150' × 3')	Griseofulvin treated beds (150' × 3')
Ascot White (Bed 1)	184	1,559 d
Ascot White (Bed 2)	108	505 d
Ashington Pink	664	881 d
Pink Sim	1,260	1,665 s
Elizabeth	308	888 s
Paloma	221	297 s

d 1.5% Griseofulvin foliage dust.
s 0.044% Griseofulvin foliage spray.

Since the difference in earliness did not usually exceed 10% the effect of the griseofulvin treatment was held to be remarkable. The nature of this effect is still being investigated. It seems likely that some of the increased vigour was due to disease control, but there is also physiological response by the plant, which is evident soon after the first treatment.

In putting these preliminary results before you today, I am conscious of that they afford inadequate indications for practical uses. However, we expect that from the numerous trials being undertaken this year we acquire a better practical understanding value of this most interesting antibiotic, griseofulvin.

REFERENCES

1. OXFORD, A. E., RAISTRICK, H. & SIMONART, P. — 1939. Studies in the biochemistry of micro-organisms. LX — Griseofulvin, C_{17} $H_{17}O_8$ Cl, a metabolic product of *Penicillium griseofulvum* Dierckx. *Biochem. J.*. **33**, 240-8.
2. BRIAN, P. W., CURTIS, P. J. & HEMMING, H. G. — (1946). A substance causing abnormal development of fungal hyphae produced by *Penicillium janczewskii* Zal. I — Biological assay, production and isolation of ‚curling factor'. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, **29**, 173-87.
3. GROVE, J. F. & McGOWAN, J. C. — (1947). Identity of griseofulvin and ‚curling factor'. *Nature*, **160**, 574.
4. GROVE, J. F., ISMAY, D., MacMILLAN, J., MULHOLLAND, T. P. C. & ROGERS, M. A. T. — (1951). The structure of griseofulvin. *Chem. & Ind.* (**11**), 219-20.
5. BRIAN, P. W. — (1949). Studies on the biological activity of griseofulvin. *Ann Bot.*, **13** (49), 59-77.
6. BRIAN, P. W., WRIGHT, J. M., STUBBS, J. & WAY, A. M.—(1951). Uptake of antibiotic metabolites of soil micro-organisms by plants. *Nature*, **167**, 347-9.
7. BRIAN, P. W. — (1952). Antibiotics as systemic fungicides and bactericides. *Ann. Appl. Biol.*, **39**, 434-8.
8. STUBBS, J. — (1952). The evaluation of systemic fungicides by means of *Alternaria solani* on tomat. *Ann. Appl. Biol.*, **39**, 439-41.
9. CROWDY, S. H. et al. — (1954). Systemic distribution of antibiotics and the control of plant disease. 8th Intern. Bot. Congress., Sect. 24, 88-90.

1y. STOKES, A. — (1954). Uptake and translocation of griseofulvin by wheat seedlings. *Plant & Soil*, **5**, 132-42.

11. CROWDY, S. H. & PRAMER, D. — (1955). The occurence of translocated antibiotics in expressed plant sap. *Ann. Bot.*, **19** (73), 79-86.
12. CROWDY, S. H. & PRAMER, D. — (1955). Movement of antibiotics in higher plants. *Chem. & Ind.*, (**7**), 160-2.
13. LAST, F. T. — Personal communication. 23rd January 1956.
14. AYTOUN, R. S. C. — (1956). The Effects of Griseofulvin on Certain Phytopathogenic Fungi *Ann. Bot.*, **XX** (78), 297-305.
15. RHODES, A. — (1955). Tests with an antibiotic on carnations. *The Grower*, **44** (26), 1510-11.

A. J. P. Oort. Wageningen

V : Have you observed stimulating effects on other plants?

A : We have observed earliness of flowering in carnation and marked stimulation of vegetative growth in chrysanthemum after treatment with griseofulvin. The griseofulvin treatment of the chrysanthemums however, was followed by marked control of mildew : it is not possible therefore to say whether the response was due to a physiological effect of griseofulvin.

W. Welvaert, Gent

V : Is there some evidence that Griseofulvin is absorbed through the roots—so to prevent rootdiseases.

A : Griseofulvin is taken up by the roots of many plants. **Last** (Rothamsted Annual Rept. 1956) has shown that griseofulvin can effectively control Club root (Plasmodiophora brassicae) in laboratory trials : further work with griseofulvin against other root diseases is now in progress.

PROEVEN INZAKE DE CHEMISCHE BESTRIJDING VAN DE RHIZOCTONIAZIEKTE EN VAN DE SCHURFTZIEKTE BIJ AARDAPPELEN

door

J. H. van Emden (1)

De Rhizoctoniaziekte van de aardappel wordt veroorzaakt door het vegetatieve stadium van de schimmel *Pellicularia filamentosa* (**Pat.**) **Rogers**. De perfecte vorm komt ook wel voor, doch deze doet voor zover mij bekend is geen schade.

Bij ernstige infectie en onder ongunstige omstandigheden, kan de schimmel de plant doden. Als echter de besmettingsgraad licht is en de groeivoorwaarden gunstig zijn, kan men de aanwezigheid van de schimmel slechts vaststellen door de plant uit te trekken en de wortels en de stolonen met een loupe te onderzoeken. In een dergelijk geval zal de plant in haar levensverrichtingen niet merkbaar gestoord worden en zal de verbouwer hoogstens de aanwezigheid van sclerotiën op de oogst constateren.

In geval het product voor consumptie verkocht moet worden en wel op de meest gebruikelijke manier in ongewassen toestand, zal een lichte aantasting nauwelijks opgemerkt worden en de waarde niet beïnvloeden. Bij verkoop van de aardappelen in gewassen toestand zal de aanwezigheid van sclerotiën reeds meer de aandacht trekken, maar zij worden pas recht belangrijk als de knollen voor pootgoed bestemd zijn. De bestrijding van de *Rhizoctonia* is dus in de eerste plaats van belang voor de telers van pootgoed. Hiermede wordt niet gezegd dat deze schimmel voor de verbouwers van consumptieaardappelen in het geheel geen betekenis heeft, maar de eerste belanghebbenden zijn toch de pootgoed telers. Dit is dan ook de reden, dat het onderzoek inzake de chemische bestrijding van de *Rhizoctonia* werd aangevangen in een centrum van pootaardappelteelt nl. Noord Noord-Holland.

De hier te bespreken proeven, hebben voorzover niet anders vermeld, betrekking op het ras ,,Bintje'', geteeld voor pootgoed (dus met kunstmatig verkorte groeiduur), op een lichte zavelgrond en voorgekiemd gepoot. Deze factoren moeten allen in het oog gehouden worden bij de waardering van de te verstrekken cijfers,

(1) Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek te Wageningen.

immers rassen kunnen verschillend reageren op een bestrijdingsmiddel en de invloed van de ziekte zowel als van het bestrijdingsmiddel op de opbrengst hangen samen met de lengte van de vegetatieperiode. Tenslotte kan de aard van de bodem de werkzaamheid van een bestrijdingsmiddel beïnvloeden.

Rhizoctonia solani komt in zeer vele gronden voor en de infectie van de plant kan gemakkelijk van de grond uit geschieden. Er zijn dus twee bronnen van infectie mogelijk. Ten eerste de op de moederknol aanwezige sclerotiën en ten tweede de in de grond aanwezige schimmel. Onder deze omstandigheden vraagt men zich af of een bestrijding, waarbij niet beide bronnen van infectie zoveel mogelijk geëlimineerd worden, succes kan hebben. Het antwoord op deze vraag is, dat proefondervindelijk kon worden vastgesteld, dat in vele gevallen het desinfecteren van de moederknol een zeer gunstig effect heeft, ook al is de grond besmet. Hiertegenover staat, dat er bepaalde streken in Nederland zijn, waar men in de practijk met knolontsmetting weinig bereikt. Hieronder zullen dan ook, naast gunstige resultaten van knolontsmetting, eveneens de cijfers worden gegeven van een proef waarin knolontsmetting geen succes had. In de veldproeven in Noord Noord-Holland werd echter gevonden, dat ontsmetten van poters met een organische kwikverbinding, zowel de opkomst als de opbrengst, de sortering en de sclerotiënbezetting van de oogst gunstig beïnvloedde. Dit resultaat werd verkregen op gronden met verschillende besmettingsgraad.

Voor de ontsmetting van pootaardappelen worden in Nederland een aantal merkpreparaten gebruikt, die voor dit doel door de Plantenziektenkundige Dienst zijn vrijgegeven. De werkwijze is voor de verschillende merken dezelfde. De poters worden gedurende 20 minuten geweekt in een 0,15% oplossing van het preparaat of wel gedurende 5 minuten in een 0,3% oplossing, of gedurende 1 minuut gedompeld in een 0,5% oplossing. Deze behandeling kan zowel in het najaar als in het voorjaar worden uitgevoerd. Volgens schrijver dezes verdient echter, om nader te bespreken redenen, een zo vroeg mogelijke ontsmetting de voorkeur.

Bij de bespreking der proeven zullen wij eenvoudigheidshalve vier objecten onderscheiden, te weten :

A. Pootgoed zonder sclerotiën, niet ontsmet.

B. Pootgoed zonder sclerotiën, wel ontsmet.

C. Pootgoed met sclerotiën, niet ontsmet.

D. Pootgoed met sclerotiën, wel ontsmet.

Door vergelijking van A en B kon worden vastgesteld, dat bij gezond pootgoed de ontsmetting de opkomst en de verdere ontwikkeling van het gewas niet nadelig had beïnvloed. Door ver-

gelijking van C en D kwam vast te staan, dat indien geen knolontsmetting was toegepast, de aanwezigheid van de *Rhizoctonia* op het pootgoed een vertraagde opkomst tengevolge had, dat het aantal stengels per plant kleiner bleef, dat de sortering van de oogst grover uitviel en dat een lagere opbrengst werd verkregen, die zwaarder met sclerotiën was bezet. De verkregen proefresultaten werden statistisch bewerkt en in alle gevallen werd het resultaat betrouwbaar bevonden. Het verschil in opkomst tengevolge van

Fig. 1

Vertraagde ontwikkeling tengevolge van aantasting door *Rhizoctonia solani*. In het midden de nateelt van poters met sclerotiën die in de voorgaande herfst werden ontsmet. Voor en achter de nateelt van poters die niet ontsmet werden.

de Rhizoctonia aantasting moge blijken uit fig. 1, de verschillen in aantal stengels per plant, in opbrengst, sortering en bezetting met sclerotiën uit de tabellen I t/m. IV.

TABEL I

Invloed van knolontsmetting op het aantal stengels per plant bij besmet pootgoed en bij gezond pootgoed (1)

	Aantal stengels per plant	
	1 proef	proef 2
A. Pootgoed gezond, niet ontsmet ...	10,5	7,6
B. Pootgoed gezond, wel ontsmet ...	11,8	8,1
C. Pootgoed besmet, niet ontsmet ...	8,0	6,3
D. Pootgoed besmet, wel ontsmet ...	9,6	8,8

(1) Zie voetnota op volgende blz.

TABEL II

Invloed van knolontsmetting op de opbrengst bij besmet pootgoed en bij gezond pootgoed (1)

	Opbrengst in grammen per plant	
	proef 1	proef 2
A. Pootgoed gezond, niet ontsmet ...	655	510
B. Pootgoed gezond, wel ontsmet ...	665	485
C. Pootgoed besmet, niet ontsmet ...	540	430
D. Pootgoed besmet, wel ontsmet ...	635	525

TABEL III

Invloed van knolontsmetting op de sortering van de oogst bij besmet en bij gezond pootgoed (1)

	Sortering van de oogst in procent per fractie			
	<28 mm	28–35 mm	35–45 mm	>45 mm
A. Pootgoed gezond, niet ontsmet	8,9	40,0	47,2	3,9
B. Pootgoed gezond, wel ontsmet	8,8	40,7	47,4	3,1
C. Pootgoed besmet, niet ontsmet	9,1	29,8	46,5	14,6
D. Pootgoed besmet, wel ontsmet	8,8	39,8	48,1	3,4

TABEL IV

Invloed van knolontsmetting op de bezetting van de nateelt met sclerotiën bij besmet en bij gezond pootgoed (1)

	Sclerotiën bezetting van de nateelt uitgedrukt in een schaal van 1–6	
	proef 1	proef 2
A. Pootgoed gezond, niet ontsmet ...	2,5	1,5
B. Pootgoed gezond, wel ontsmet ...	1,7	0,7
C. Pootgoed besmet, niet ontsmet ...	3,8	3,7
D. Pootgoed besmet, wel ontsmet ...	1,8	2,0

(1) Onder „gezond pootgoed" wordt verstaan pootgoed waarop geen sclerotiën van *R. solani* voorkwamen, doch waarop in vele gevallen met de loupe wel enkele mycelium draden konden worden gevonden.

Hierboven werd reeds gezegd dat aan ontsmetting zo kort mogelijk na de oogst de voorkeur dient te worden gegeven boven ontsmetting in het voorjaar. De reden hiervoor is, dat *Rhizoctonia* zich gedurende de bewaring niet onaanzienlijk kan uitbreiden en beschadiging van kiemen kan veroorzaken (fig. 2). Voorts mag

Fig. 2

Beschadiging van de spruiten gedurende de bewaring (donker). De poterbakjes links voor en rechts achter bevatten knollen vrij van *R. solani*. De poterbakjes rechts voor en links achter bevatten besmette knollen. Alle poters zijn afkomstig uit de zelfde partij, zij werden in de herfst gesorteerd in „vrij" en „aangetast" en in dezelfde cel van een bewaarplaats met luchtkoeling bewaard.

als argument voor een vroege ontsmetting nog worden genoemd het feit, dat de behandeling met organisch kwik niet alleen effectief is tegen *R. solani*, maar ook de ontwikkeling van *Colletotrichum atramentarium* (**Berk.** et **Br.**) **Taub.** en van *Spondylocladium atrovirens* **Harz** tijdens de bewaring voorkomt, zoals werd aangetoond door Mooi (1955).

Wat betreft eventuele beschadiging der knollen door de ontsmetting moet worden opgemerkt, dat in het jaar 1954 door Mooi en Bijloo (ongepubliceerd) bij bepaalde rassen werd geconstateerd, dat de knolontsmetting een tragere opkomst van het gewas tengevolge had. Bij diezelfde rassen vonden deze onderzoekers in het jaar 1955 echter geen vertraagde kieming. Door schrijver dezes werd bij het ras Bintje in 1954 en 1955 geen nadelige invloed van knolontsmetting waargenomen.

Tot nu toe is alleen gesproken over de ontsmetting van het pootgoed. Ontsmetting van de grond kan echter eveneens de aantasting door *Rhizoctonia* onderdrukken. Hoewel omtrent dit punt minder proeven werden genomen dan over het voorgaande, kunnen toch de volgende gegevens worden verstrekt.

TABEL V

Invloed van grondbehandeling op de opbrengst en op de bezetting van de oogst met sclerotiën, bij gebruik van ontsmet pootgoed

	Opbrengst in g per plant	Bezetting met sclerotiën
A. Zineb naar rede van 13 kg/ha...	716	2,8
B. Zineb naar rede van 26 kg/ha...	716	2,4
C. PCNB naar rede van 200 kg/ha	658	0,5
D. Onbehandeld	674	2,5

TABEL VI

Invloed van knolontsmetting en grondbehandeling op de bezetting van de oogst met sclerotiën bij het ras Eigenheimer op lichte zandgrond in Drente

	Bezetting met sclerotiën
A. Knollen ontsmet met organisch kwik	2,4
B. Idem met 0,05% $HgCl_2$ en 0,05% $Hg(CN)_2$ ...	2,9
C. Grond behandeld met zineb 13 kg/ha	2,6
D. Idem met $HgCl_2$ 16 kg/ha	1,4
E. Idem met PCNB 100 kg/ha....................	0,6
F. Onbehandeld	2,8

Bij de gewone aardappelschurft veroorzaakt door *Streptomyces scabies* is de situatie enigszins anders dan bij de *Rhizoctonia*. Bij de schurft gaat de ziekte n.l. niet direct van de poter over op de nateelt. Dit bleek duidelijk uit een potproef, waarin naast elkaar voorkwamen potten met gestoomde grond en potten met besmette grond. In de gestoomde grond gaven zowel schurftige als blanke poters een schurftvrije nateelt, terwijl in de besmette grond beide soorten poters een schurftige nateelt gaven. Van het ontsmetten van de poters mag dus in geval van de schurftziekte geen bestrijding van de kwaal verwacht worden. De proeven inzake de bestrijding van de schurft, die werden genomen in samenwerking met Ir. Labruyère bleven dan ook beperkt tot het ontsmetten van de grond en het regelen van de zuurgraad. Het is nl. een bekende practijkervaring dat het optreden van schurft binnen zekere grenzen ernstiger wordt bij hogere pH waarden. In een proef waarbij de pH kunstmatig verlaagd werd door toepassing van zwavelpoeder en kunstmatig verhoogd werd door een kalk bemesting, terwijl bovendien in alle objecten grondontsmetting met zineb, sublimaat en PCNB werd toegepast, werd het volgende resultaat verkregen.

In de bekalkte vakken had de grondontsmetting met sublimaat en met PCNB een duidelijk gunstige invloed op de schurftaan-

tasting. In de met zwavel behandelde vakken werd de werking van de grondontsmetters overheerst door het effect van de zwavel.

TABEL VII

Invloed van grondbehandeling op het optreden van schurft op aardappelen

2000 kg S/ha		1000 kg S/ha		3000 kg kalk/ha		6000 kg kalk/ha	
opp. met churft	opbrengst in % van controle	% opp. met schurft	opbrengst in % van controle	% opp. met schurft	opbrengst in % van controle	% opp. met schurft	opbrengst in % van controle
3.5	108	A. 2.8	88	A. 4.3	99	A. 3.4	102
2.7	107	B. 5.1	86	B. 6.0	101	B. 3.3	102
3.1	102	C. 4.9	95	C. 5.4	95	C. 9.0	107
3.9	100	D. 4.0	100	D. 12.3	100	D. 11.5	100
pH aan het begin water 6.1 KCl 5.1 pH aan het eind water 5.4 KCl 4.9		pH aan het begin water 6.1 KCl 5.1 pH aan het eind water 5.6 KCl 5.2		pH aan het begin water 6.1 KCl 5.1 pH aan het eind water 6.7 KCl 6.4		pH aan het begin water 6.1 KCl 5.1 pH aan het eind water 6.7 KCl 6.5	

A. PCNB 200 kg/ha B. sublimaat 16 kg/ha C. zineb 20 kg/ha D. controle

In de provincies Groningen, Friesland en de Noord Oost-Polder werden veldproeven genomen waarin grondbehandeling met sublimaat, PCNB, zineb en borax werd toegepast. Het resultaat was als volgt.

TABEL VIII

Invloed van grondbehandeling op het optreden van schurft in drie proefvelden (1955)

Friesland			Groningen			Noord-Oost-Polder		
bject	% opp. schurftig	Opbrengst in % van controle	Object	% opp. schurftig	Opbrengst in % van controle	Object	% opp. schurftig	Opbrengst in % van controle
3	5.1	108	1	6.8	93	1	4.4	110
1	9.2	105	2	7.5	92	2	4.4	109
2	10.1	105	3	8.0	85	3	5.9	102
4	15.7	103	6	13.2	100	4	15.9	103
5	18.0	93	4	14.7	93	6	17.9	100
6	20.0	100	5	26.5	87	5	23.0	105
rijp gerooid			groen gerooid			rijp gerooid		

1 PCNB 100 kg/ha
2 PCNB 200 kg/ha
3 Sublimaat 16 kg/ha
4 Zineb 20 kg/ha
5 Borax 50 kg/ha
6 Controle

Uit deze cijfers blijkt dat in alle gevallen de PCNB en de sublimaat een duidelijke gunstige invloed hadden. Zineb had in het geheel geen invloed op het optreden van schurft en merkwaardig genoeg werd in één geval de aantasting statistisch betrouwbaar verhoogd door de toepassing van borax naar rede van 50 kg/ha.

SAMENVATTING

De schade veroorzaakt door *Rhizoctonia solani* kan soms aanzienlijk verminderd worden door het pootgoed te ontsmetten met organische kwikverbindingen. Deze behandeling is niet altijd effectief, de factoren die het effect van de knolontsmetting te niet kunnen doen zijn niet bekend. Behandeling van de grond met sublimaat (16 kg/ha) of met PCNB (100 kg/ha) had eveneens een duidelijk verminderde aantasting tengevolge. Grondbehandeling met PCNB 100 kg/ha, met sublimaat 16 kg/ha en met zwavel 1000 kg/ha had een duidelijk verminderde invloed op de aantasting door schurft.

LITERATUUR

MOOI, J. C. — Knolaantasting bij enige aardappelrassen door Colletotrichum atramentarium (Berk. et Br.) Taub. *Tijdschrift over Plantenziekten* **61** (1955), 22-23.

FUSARIOSE VAN MELOENEN

door

W. Welvaert en R. Veldeman

De Fusariose van de meloenen is sinds enkele jaren een plaag, vooral in de streek van Merelbeke, alsook in het Mechelse, welke soms zeer grote afmetingen aanneemt. Deze ziekte is een typische verwelkingsziekte.

Ziektebeeld

De eerste symptomen zijn een licht-gele verkleuring van de bladeren gevolgd door een volledig slap hangen van de plant, waarna deze afsterft. De aantasting kan zich op verschillende plaatsen op de plant voordoen. Men constateert veelal kraagbeschadigingen waarbij na een zeker tijdsverloop op de kraag een wit schimmelpluis en soms een vocht te voorschijn komt. Onderzoekt men dan de wortels dan zijn deze ook meestal aangetast. Een zuivere wortelbeschadiging kan ook voorkomen doch dit is minder het geval. Doorgaans ziet het merendeel van het wortelgestel er gezond uit. Alleen zijn er hier en daar dan verspreid, kleine bruine vlekjes op te merken.

Ook rankbeschadigingen hebben we vaak vastgesteld. Deze had geen verbinding met het wortelgestel. Jonge vruchtjes zowel als oudere kunnen ook aangetast, de kleine groeien niet meer door, de grotere gaan rotten.

Oorzaak van de beschadiging

Bij isolaties uit deze zieke planten zou steeds hetzelfde Fusatium type n.l. : Fusarium oxysporum (eventueel bulbigenum) worden geïsoleerd.

Fusarium oxysporum uitzicht sporen :

1. Heel veel — afmet. : 6-12/2-3 micr.
2. Veel — afmet. : 12-20/3 micr.
3. Afmet. : 22-40/4 micr.
4. Chlamydosporen 8-12,5 ø.

Om een idee te krijgen nopens de verspreiding ervan bij de kwekers werden een aantal monsters onderzocht welke met het blote oog, er al of niet ziek uitzagen. Hierna laten we de uitslagen dezer isolaties volgen. Het geeft het aantal Fusarium oxysporum cultuurtjes aan per uitgeplaat stukje, op het totaal aantal geïsoleerde schimmels.

Monster I :

zieke planten, teelt in koude bak :
uit fijne wortels : 18/20
uit dikke wortels : 4/20
uit voet van de plant : 20/21
uit knoop van de vertakkingen : 26/26
uit streepvlek op de rank : 28/28

Monster II :

schijnbaar gezonde plant uit dezelfde bak als monster I
uit fijne wortels : 13/20
uit dikke wortels : 16/20
uit voet : 8/22
uit knoop van de vertakkingen : 9/19

Monster III :

schijnbaar gezonde plant, teelt in bak
uit fijne wortels : 12/19
uit dikke wortels : 27/27
uit de voet van de plant : 16/21

Monster IV :

zelfde bak als monster III
uit fijne wortels : 16/16
uit dikke wortels : 10/21
uit voet : 18/18
uit knoop van vertakking : 30/30
uit streepvlek : 18/22
uit afgestorven scheut : 18/22

Monster VI :

gezonde plant uit kweekserre waarin nog geen meloenen groeiden.
uit fijne wortels : 1/20
uit dikke wortels : 1/20
uit voet : 20/21
uit vertakkingsknoop : 18/22

Monster VII :

uit fijne wortels : 3/20
uit dikke wortels : 7/20
uit voet : 13/21
uit vertakkingsknoop : 7/16

Monster VIII :

zieke plant, uit niet gestoomde grond
uit fijne wortels : 7/16
uit dikke wortels : 17/17
uit voet : 3/15
uit vertakkingsknoop : 22/24
uit bladsteel vergeeld blad : 20/20

Monster IX :

schijnbaar gezonde plant uit dezelfde bak als monster VIII.
uit fijne wortels : 6/22
uit dikke wortels : 8/22
uit voet : 8/22
uit vertakkingsknoop : 14/22
uit uitgenepen top van zijtak : 7/16

Monster X :

plant uit gestoomde grond
uit fijne wortels : 7/20
uit dikke wortels : 21/30
uit voet : 21/22
uit knoop van vertakking : 24/24
uit streepvlek op rank : 20/20
uit ziek geel meloentje : 4/10

Monster XI :

zieke plant uit nieuwe grond
uit dikke wortels : 17/17
uit voet : 30/30
uit vertakking : 13/22
uit streepvlek op rank : 19/19
uit afgestorven rank : 26/26

Monster XII :

gezonde plant, uit kas met enkele zieke planten
uit dunne wortels : 2/10
uit dikke wortels : 12/21
uit voet : 12/24

Monster XIII :

uit zieke plant uit kas voor het eerst meloenen ingegroeid
uit dikke wortels : 17/20
uit voet : 2/22
uit vertakkingsknoop : 18/18
uit hoofdrank : 23/23

Monster XIV :

gezonde plant uit kas met enkele zieke planten
uit fijne wortels : 2/20
uit dikke wortels : 11/20
uit voet : 10/20
uit vertakkingsknoop : 5/22

Monster XV :

plant uit gestoomde kas :
uit zieke voet : 25/25
uit vlek op de rank : 25/25
uit stengel 2 cm boven zieke voet : 25/25
uit schijnbaar gezonde wortels onder zieke voet : 10/25

Monster XVI :

plant uit niet gestoomde grond
uit stengel boven ziek gedeelte : 13/35
uit schijnbaar gezonde wortels onder zieke voet : 9/40

Monster XVII :

plant uit gestoomde kas
uit zieke voet : 25/25
uit schijnbaar gezonde wortels onder zieke voet : 10/40
uit schijnbaar gezonde rank 5 cm boven zieke voet : 7/25
uit voet van schijnbaar gezonde plant : 2/25
uit de rank van schijnbaar nog gezonde plant : niets

Uit deze gegevens alleen reeds kan men zich een idee vormen over de verspreiding van de ziekte, vrijwel alle bedrijven uit de streek van Merelbeke zijn besmet. Daaruit blijkt ook dat bij de kwekers gezond uitziende planten toch fel besmet kunnen zijn.

Onderzoek van het zaad

Daar het van belang was te weten of het zaad besmet was werden enkele zaadmonsters op Fusarium onderzocht. Uit ieder monster werden een 50-tal zaden afgewassen met javelle-water en dan op suikeragarbodem te kiemen gelegd.

Geïsoleerde schimmels

Uit monster 1) uit sterk met voetziekte besmette kas :
1 Chaetomium sp.
2) uit licht besmette kweekbakken :
niets
3) uit sterk besmette kas :
niets
4) uit licht besmette kas :
niets
5) uit licht besmette kweekbakken
niets
6) uit niet besmette kas :
1 Chaetomium sp.
7) uit licht besmette ramen :
niets
8) uit licht besmette kas :
niets
9) uit niet besmette serre :
Mycelium; niet verder bepaald
10) 2 Chaetomium sp.; 1 Stemphylium
11) 3 Chaetomium sp.
12) 1 Stemphylium, 1 Fusarium scirpi
13) niets
14) 1 Chaetomium + Stemphylium sp.
15) 1 Stemphylium + 1 Fusarium scirpi
16) 1 Stemphylium

Al deze monsters waren dus niet met een Fusarium oxysporum besmet. Dit zaad onderzoek laat toe te besluiten dat de besmetting van het zaad hier meestal van ondergeschikt belang zoniet te verwaarlozen is. Niettemin is zaadontsmeting toch aan te raden.

Invloed van de pH en Temperatuur op de schimmelgroei

Met het oog op de bestrijding voerden we enkele proeven uit *in vitro* om de invloed van de pH en de temperatuur te kennen op de schimmel zelf.

Als basisbodem gebruikten we : 20 g suiker + 1 g KNO_3 + 0,5 g NaCl + 1 g KH_2PO_4 + 0,25 g $MgSO_4$ per liter H_2O.

Na koken werd aangezuurd met citroenzuur tot pH 4.

Door toevoegen van NaOH konden verschillende bodems gemaakt met pH : 4–5–6–7–8 en 9 (vóór sterilisatie gemeten). Na sterilisatie was de pH der onderscheiden bodems : a) 4,7–4,8; b) 5,2–5,4; c) 5,4-5,8; d) 6,8–7; e) 7,1–7,2; f) 7,3.

Deze bodems uitgegoten in petrischalen (15 ml per schaal) werden geënt met de Fusarium in het midden. Ieder der pH reeksen plaatsten wij bij verschillende temperaturen nl. : 11–20–25–30 en 35° C. Van ieder objekt waren er 5 herhalingen. Op volgende bladzijde laten we de gemiddelden van 5 metingen volgen van de verschillende objekten, ingeënt op 17–7–1954.

Uit die gegevens kan blijken dat de optimum temperatuur zich tussen 25–30° C bevindt. Voor wat de optimum pH-waarde aangaat : de invloed van de pH op de uitgroei is miniem. Een zeer licht optimum is waar te nemen bij pH = 6,8–7. Daaruit volgt dat de pH, als rechtstreekse beïnvloeder van de zwam beschouwd, van weinig invloed zal zijn bij de bestrijding. Wel kan nagegaan welke het pH optimum voor groei is voor de meloenplant zelf.

Besmettingsproeven : Waardplanten — pH-invloed

Een eerste besmettingsproef voerden we uit op ingepotte jonge meloenplantjes en tegelijk ook op enkele komkommers en pompoenplantjes samen met 13 verschillende soorten of variëteiten, om een idee te krijgen over het waardplanten spectrum en meteen de invloed van de pH bij besmetting te kennen.

Gebruikte potgrond : bladgrond gemengd met tuinaarde.

pH bij A = 4,6 — 4,8
B = 7 — 6,5
C = 8 — 8,2

We zaaiden de plantjes op 27 mei bij 27° C. We besmetten de potjes met een conidiënsuspentie van Fusarium uit voetzieke meloenen. Data van de besmetting : 7 mei en 24 juni.

Resultaat :

De komkommer- en pompoenplantjes werden niet ziek, de meloenplantjes wel. We konden uit de zieke meloenplanten de Fusarium opnieuw isoleren.

Tabel : Invloed van pH en t° op schimmelgroei (in mm)

Temp.	Data	pH serie					
		A	B	C	D	E	F
11°	20–7–54	00,0	0,8	0,8	0,25	0,6	1,2
	22–7–54	4,8	7,4	7,4	11,7	8,8	6
	23–4–54	10,4	15	16,8	15	15,8	15,1
	26–7–54	18,2	17	22,2	20	19,4	22,5
	27–7–54	21	30	28,2	26,2	26	29
	28–7–54	28,2	35	33	32,7	29,7	32,4
	29–7–54	33,6	38	35,2	36,7	39,5	37,2
	31–7–54	37,2	41	39,6	39,5	39,2	44,6
20°	20–7–54	10,8	14,9	16,4	9,8	8,8	14
	22–7–54	28,8	38	32,6	39	36	35,7
	23–7–54	41	49,8	47	49,6	49	47
	26–7–54	57,4	65,8	62	60,4	53	58,7
	27–7–54	74	76	74	72,6	82	77
	28.7.54	77	77	76,4	78,2	85	77
	29–7–54	81,8	80,8	81,8	82,6	V	80
	31–7–54	V	V	V	V	V	V
25°	20–7–54	24,2	22	27,2	23	24,6	26,4
	22–7–54	50	53,7	55	52	51,6	48
	32–7–54	57	64,5	67,6	62	56,2	62
	26–7–54	68,6	73	74,8	72,4	64,9	73,4
	27–7–54	78,2	78,2	84	87,6	76,4	78,6
	28–7–54	80	86,2	86	V	82	87
	29–7–45	85	V	V	V	V	V
	31–7–54	V	V	V	V	V	V
30°	20–7–54	23,2	27,6	24	23,4	22,7	22
	22–7–54	44,8	47,2	47,2	48,6	56	49
	23–7–54	54	62,4	56,2	61,6	69,8	61,4
	26–7–54	70,2	71,8	66,2	71	73,2	70,4
	28–7–54	83,6	78	73,6	77	83,6	76,4
	29–7–54	87	83,2	82,5	V	V	79,6
	31–7–54	V	V	V	V	V	V
35°	20–7–54	5,3	5,6	7	7,8	5,8	12,5
	22–7–54	7,2	11,2	10,2	13,4	10,6	16,2
	23–7–54	9,4	11,6	14,6	28,4	32	38,2
	26–7–54	23	26,2	26,4	35	33	42,6
	27–7–54	31	32	30,2	38,	35,3	44,2
	29–7–54	37,5	34	26,2	39,9	38,3	45
	31–7–54	37,5	49	38,2	44	38,3	45

bij pH = 4,6 — 4,8 : op 25 juni waren al de planten besmet

bij pH = 6,5 — 7 : op 27 juni waren 7 planten ziek

30 juni	,,	2	,,	,,
8 juli	,,	5	,,	,,
9 juli	,,	2	,,	,,
13 juli	,,	1	,,	,,
15 juli	,,	1	,,	,,
26 juli	,,	1	,,	,,

bij pH = 8 à 8,5 : op 30 juni waren 5 planten ziek

9 juli	,,	9	,,	,,
15 juli	,,	1	,,	,,
26 juli	,,	3	,,	,,

Bij de 3 verschillende pH-waarden werden in gebruikte gronden al de meloenplanten ziek, echter het vroegst bij lage pH. Het is dus wel belangrijk met de pH van de grond rekening te houden en liefst te werken in een meer neutrale grond (pH 6,5–7). Bij verdere infektieproeven dreven we de pH steeds op tot 6,5.

Om te zien of verder andere cucurbitaceën konden aangetast voerden we terug infektieproeven uit op komkommer, pompoen en kolokwint.

Gebruikte variëteiten :

Kolokwint gemengd
Komkommer Rollinsen's Telegraph
Groene lange Engelse
kleine (cornichon vert petit de Paris)
lange groene
fijne venlose
half lange
Pompoen : witte niet kruipende
helrode van Etampes
gele van Parijs
De planten waren 3 weken oud.

Wijze van besmetting :

1° proef :

conidiënsuspentie op inkerving op stengel en kiembladeren.

2° proef :

conidiënsuspentie op inkerving op stengel en bedekking van de wonden met watte doordrenkt met conidiënsuspentie.

In deze wonden konden we geen enkele plant besmetten, de Fusarium was fel parasitair voor meloenen.

Grondontsmettingsproeven

Door verscheidene onderzoekers werd in de bestrijding vooral de nadruk gelegd op het voorkomen van de ziekte. Dit o.a. door grondstomen, chloorpicrine behandelingen enz. Niettegenstaande bv. het grondstomen treedt de ziekte toch nog op het einde van het seizoen soms zeer hevig op. Daar in ons geval het gevaar van herbesmetting wel zeer groot is, bv. door het inbrengen van besmette plantjes, zo werd getracht door behandelingen van de grond

met diverse fungiciden de jonge plantjes een zekere bescherming te bezorgen. We waren hierbij wel enigszins aangemoedigd door de resultaten bekomen met deze methode tegen Fusarium van Aechmea fasciata.

Een eerste reeks ontsmettingsproeven werden uitgevoerd met zeer uiteenlopende fungiciden voor wat hun basisprodukt betreft nl. : T.M.T.D.; Nabam; Oxychinoline sulfaat, Brassicol (basis : pentachloronitrobenzeen); niriet (organische cyaanverbinding); germisan (organische kwikverbinding).

Deze produkten werden in gesteriliseerde grond gemengd en onmiddellijk werden de kiemplantjes ingepot. Deze kiemplantjes waren meestal maar een 5-tal dagen oud en hadden gekiemd op vochtig filtreerpapier bij 27°. Enkele dagen na het inpotten werden de plantjes besmet door een paar ml conidiënsuspentie van de Fusarium oxysporum cultuur in de potjes te gieten. Hierna volgen de uitslagen dezer proeven :

1° proef

We potten de kiemplanten in op 8 Augustus in een gestoomd mengsel van fijne bladgrond en tuinaarde. We verdeelden ze in reeksen en brachten verschillende ontsmetstoffen in de grond.

Aantal planten per reeks : 20.

Met een sporensuspentie besmetten we de planten op 12 Augustus en 6 september.

Gebruikte ontsmetstof	Data	Aantal zieke planten
T.M.T.D. produkt	20 augustus	2
200 mg/kg grond	23 augustus	1
	26 augustus	2
	28 augustus	2
	6 september	2
	15 september	3
	22 september	1
	te samen	13
Na b a m	20 augustus	1
200 mg/kg grond	23 augustus	3
	26 augustus	2
	28 augustus	3
	18 september	1
	22 september	1
	te samen	11

Gebruikte ontsmetstof	Data	Aantal zieke planten
Oxychinoline 100 mg/kg grond	20 augustus	3
	23 augustus	4
	26 augustus	2
	28 augustus	1
	10 september	3
	18 september	2
	22 september	3
	te samen	18
Brassicol 1 gr/kg	20 augustus	2
	25 augustus	1
	28 augustus	1
	20 augustus	1
	1 september	1
	15 september	1
	18 september	1
	22 september	1
	te samen	9
Niriet 1 gr/kg	20 augustus	2
	23 augustus	3
	26 augustus	2
	1 september	1
	4 september	1
	10 september	1
	18 september	1
	22 september	3
	te samen	14
Germisan 200 mg/kg	20 augustus	1
	23 augustus	4
	26 augustus	1
	28 augustus	1
	10 september	1
	16 september	1
	22 september	1
	te samen	10
Controle	20 augustus	2
	23 augustus	5
	26 augustus	3
	28 augustus	1
	1 september	1
	10 september	1
	18 september	3
	te samen	16

Verschillende proeven met hogere doses ontsmetstof en andere produkten zijn ingezet.

2° proef

Ingepot op 20 Augustus.
Aantal planten per reeks : 10.
Besmet op : 27 Augustus.

Gebruikte ontsmetstof	Data	Aantal zieke planten
T.M.T.D. produkt	10 september	1
500 mg/kg	15 september	1
pH = 6,3	18 september	4
	28 september	1
	te samen	9
pH = 7,3	18 september	2
	22 september	2
	28 september	2
	te samen	6
Nabam 19%	10 september	1
3 ml/kg	15 september	3
pH = 6,3	18 september	4
	22 september	1
	28 september	1
	te samen	10
pH = 7,3	10 september	1
	28 september	1
	te samen	2
Oxychinoline	4 september	1
200 mg/kg	10 september	1
pH = 6,3	18 september	1
	22 september	4
	28 september	1
	te samen	8
pH = 7,3	6 september	2
	10 september	1
	22 september	3
	28 september	3
	te samen	9
Brassicol	10 september	1
2000 mg/kg	16 september	1
pH = 6,3	18 september	1
	22 september	1
	28 september	2
	te samen	6

Gebruikte ontsmetstof	Data	Aantal zieke planten
pH = 7,3	18 september	2
	22 september	1
	28 september	2
	te samen	5
Niriet 2000 kg/mg pH = 6,3	6 september	1
	15 september	1
	18 september	3
	22 september	3
	28 september	2
	te samen	10
pH = 7,3	15 september	1
	18 september	1
	22 september	4
	28 september	2
	te samen	9
Germisan 500 mg/kg pH = 6,3	15 september	1
	18 september	1
	22 september	3
	28 september	3
	te samen	8
pH = 7,3	22 september	4
	te samen	4
Controle pH = 6,3	10 september	2
	16 september	3
	18 september	2
	22 september	1
	28 september	1
	te samen	9
pH = 7,3	4 september	2
	16 september	0
	18 september	4
	22 september	2
	28 september	1
	te samen	8

3° proef

Ingepot op 27 Augustus.
Aantal planten per reeks : 20.
Besmet op 6 September.

Gebruikte ontsmetstof	Data	Aantal zieke planten
T.M.T.D.	22 september	1
1000 mg/kg grond	28 september	2
	1 oktober	5
	8 oktober	7
	te samen	15
Nabam 19%	22 september	1
5 ml/kg	28 september	4
	1 oktober	3
	8 oktober	9
	te samen	17
Oxychinoline	22 september	7
500 mg/kg	28 september	9
	1 oktober	3
	8 oktober	0
	te samen	19
Brassicol	22 september	1
5000 mg/kg	28 septmber	4
	1 oktober	3
	8 oktober	3
	te samen	11
Niriet	28 septemner	2
500 mg/kg	1 oktober	6
	8 oktober	10
	te samen	18
Germisan	22 september	2
1000 mg/kg	28 september	6
	8 oktober	6
	te samen	18
Controle	18 september	1
	22 september	8
	28 september	6
	1 oktober	2
	te samen	17

Grondontsmettingsproeven tegen Fusarium bij meloen

Samenvattende tabel van de 3 proeven

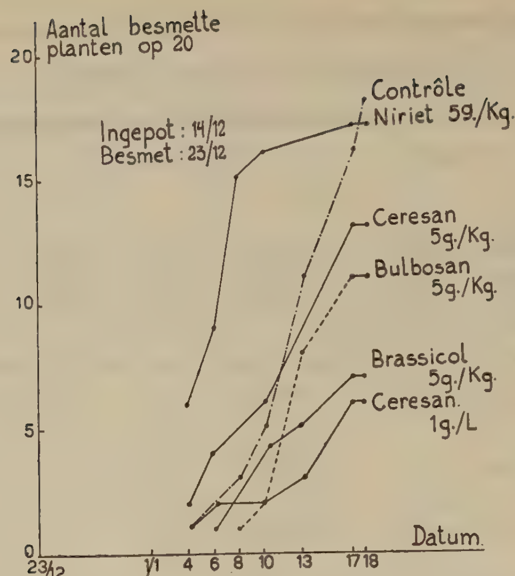
Produkt	1° Proef		2° Proef			3° Proef	
	Concentratie v/h produkt per kg grond	Zieke planten na ± 1 maand op 20	Concentratie v/h produkt	pH grond	Zicke planten op 10	Concentratie v/h produkt	Zieke planten op 20
T M T D	200 mg	13	500 mg	6,3 7,3	9 6	1 gr	15
Nabam	200 mg	11	3 ml/19%	6,3 7,3	10 2	5 ml/19%	17
Oxychinoline sulfaat	100 mg	18	200 mg	6,3 7,3	8 9	500 mg	19
Grassicol	1 gr	9	2000 mg	6,3 7,3	6 5	5000 mg	11
Niriet	1 gr	14	2000 mg	6,3 7,3	10 9	5000 mg	18
Germisan	200 mg	10	500 mg	6,3 7,3	8 4	1000 mg	19
Controle	—	16		6,3 7,3	9 9		17

In lage dosis werkten Brassicol, Nabam en Germisan. Van deze reeks bleek Brassicol toch de zekerste resultaten te geven; zelfs bij verhoogde concentratie.

De invloed van de pH, in de tweede proef, schijnt beter van zodra er enige werking van het produkt is.

4° proef

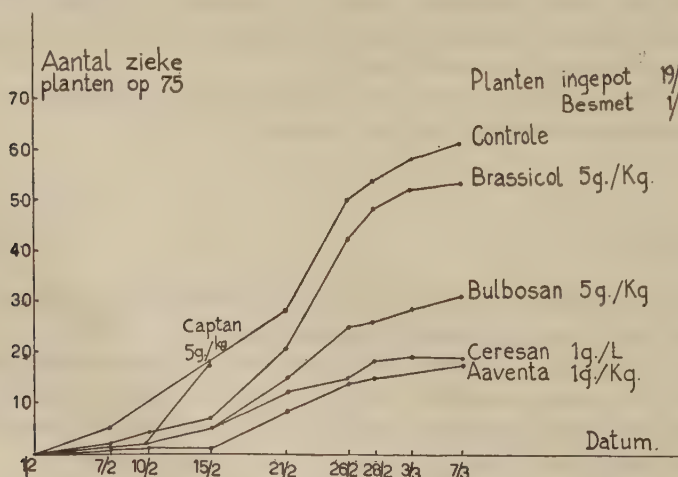
We vergeleken hier de werking van Brassicol, met niriet, ceresan (een ander organisch kwikprodukt), en Bulbosan (organische verbinding). Ceresan werd op twee manieren toegediend nl. : in de grond gemengd 5 gr/kg grond en door de grond te begieten met een oplossing van 1 gr/liter water. De resultaten hiervan waren als volgt :



In deze proef was Brassicol terug goed werkzaam, Ceresan beter bij het begieten van de grond met een oplossing, dan door het inmengen van hogere doses (5 kg/kg).

In een 5° proef vergeleken we Brassicol (5 gr/kg) Ceresan 1 g/l) een ander organisch kwikpreparaat Aaventa (1 gr/kg), Bulbosan (5 gr/kg) en Captan (5 gr/kg). Zie fig. 3).

Het aantal planten per reeks bedroeg 75. De proef werd gestopt 5 weken na de besmetting. De zeer goede werking der beide kwikpreparaten is hier opvallend. Brassicol was merkelijk minder en Bulbosan middelmatig. De reeks met Captan (5 gr/kg) werd opgeruimd daar het afsterven eerder een verbranding dan een Fusariose was.



Besluit

Uit deze reeks proeven kan men wel besluiten dat de kwik-preparaten meestal een goede werking hebben en mogelijks van nut kunnen zijn voor de praktijk. De giftigheid dezer produkten kan men hier als een bezwaar aanzien. Bij een proef bij een kweker welke beschikte over Tillex, ook op basis van organische kwik, werden in een besmette serre een 5-tal planten behandeld met zware dosis nl. : 50 ml Tillex per 20 liter water.

Deze planten bleven gezond waar de rest vrijwel volledig was afgestorven. Een meloen van de behandelde planten en een van niet behandelde stuurden we op naar het Centraal Laboratorium te Brussel voor een analyse op kwik. De uitslag was als volgt :

Object	ppm op het produkt als dusdanig	ppm op droge stof
Niet behandelde plant	0,065	0,9
Behand. met kwikpreparaat	0,095	1,21

Er is dus wel een lichte verhoging aan kwikgehalte merkbaar zonder daarom zeer groot te zijn. Voor wat de werking van Brassicol betreft, (op basis van pentachloronitrobenzeen, weinig giftig) werking meestal goed, doch ook geen absolute zekerheid (zie vijfde proef).

De mogelijkheid van organische verbindingen te vinden welke minder giftig zijn blijkt ons hieruit niet uitgesloten.

Een voorbeeld daarvan kan volgende proef ons aantonen :

Enkele produkten welke nu geen typische fungiciden zijn doch ontsmettende eigenschappen bezitten in de pharmacie werden in de grond gemengd, en verder volgden we dezelfde werkwijze als bij de voorgaande proeven. Gezien de lage concentraties welke we gebruikten kan wel besloten dat een paar produkten althans wel enige werking hebben. Hierna volgen de uitslagen van deze proef :

We potten de kiemplaten in op 1 September in een gestoomd mengsel van bladgrond en tuinaarde, pH = 7. We verdeelden ze in reeksen en brachten verschillende ontsmetstoffen in de grond.

Aantal planten per reeks : 20.

Met een sporensuspensie besmetten we planten op 6 September.

Resultaat :

Gebruikte ontsmetstof	Data	Aantal zieke planten
Zinkstearaat	15 september	2
500 mg/kg	22 september	2
	28 september	3
	te samen	13
Septopol	15 september	2
5000 mg/kg	22 september	4
	28 september	4
	te samen	10
Kalium sulfogajacolaat	10 september	2
	16 september	1
	22 september	4
	28 september	7
	te samen	14
Na benzoaat	10 september	3
500 mg/kg	16 september	3
	28 september	7
	te samen	13
Resorcine	10 september	1
500 mg/kg	15 september	1
	22 september	7
	28 september	7
	te samen	16
Pyoetannine	10 september	3
500 mg/kg	10 september	11
	28 september	3
	te samen	17
Controle	10 september	6
	15 september	1
	22 september	8
	29 september	5
	te samen	20

Enkele proeven met Griseofulvine tegen Fusarium

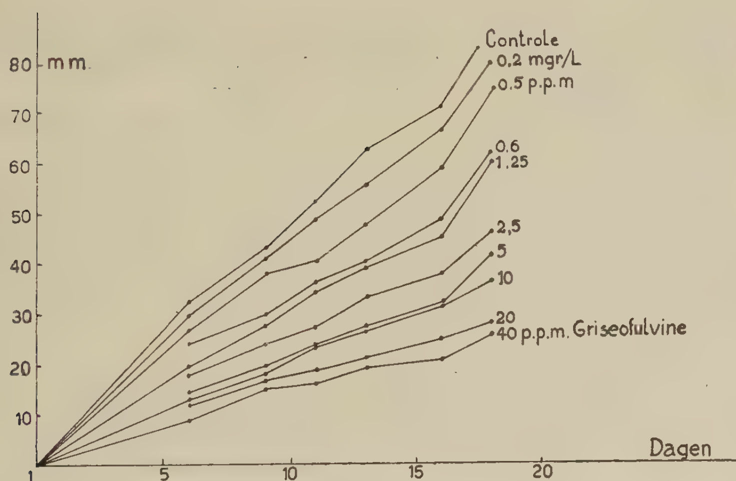
Van een nieuw antibioticum dat men aanziet als systematisch fungicide nl. : Griseofulvine werd ons door Glaxo-laboratories een monster overhandigd waarvoor wij hier danken.

Een proef *in vitro* werd opgesteld om de invloed van het produkt na te gaan op de uitgroei op agardodem van Fusarium oxysporum, een parasiet van meloenen.

De bodems waren als volgt samengesteld :

Basisbodem : suiker 20 g
agar : 15 g
KNO_3 : 0,5 g
Ammoniumsulfaat : 0,5 g
Dikaliumfosfaat : 0,5 g
Natriumchloride : 0,2 g
stadswater : 1 l
pH : 5,5.

Bodem	1 :	contrôle =	basisbodem			
	2 :	basisbodem	+	0,2	mg/l	griseofulvine
	3 :	,,	+	0,5	mg/l	,,
	4 :	,,	+	0,6	mg/l	,,
	5 :	,,	+	1,25	mg/l	,,
	6 :	,,	+	2,50	mg/l	,,
	7 :	,,	+	5	mg/l	,,
	8 :	,,	+	10	mg/l	,,
	9 :	,,	+	20	mg/l	,,
	10 :	,,	+	40	mg/l	,,



De agar werd in petrischalen gegoten (5 per serie) en centraal geënt op 11 februari 1956 met Fusarium oxysporum (uit meloen). De uitgroei werd gemeten op resp. 17, 20, 22, 24, 27 februari en 1 maart.

De gemiddelden der 5 metingen van de kultuurdiameter in mm waren als volgt :

Datum	Controle	0,2 ml	0,5	0,6	1,25	2,5	5	10	20	40 mg/l
17/2	32,6	29,6	27	24,2	20	17,8	13,2	14,4	12	8,8
20/2	46,2	41,4	37,8	29,6	27,6	24	19,4	18,2	16,6	14
22/2	51,8	48,4	40,6	35,8	34	27	23,2	23,6	18,6	16
24/2	62,6	55,2	47,6	40,2	39	33	27,2	26,6	21	19
27/2	70,5	66,4	53,4	48,8	45,2	37,4	31,8	34,8	24,4	20,6
1/3	Vol	80	74	61,6	60	46,2	41	35,8	28	25,6

Bij zeer kleine concentratie (0,2 mg/liter griseofulvine) is *in vitro* dus reeds remming waar te nemen. Volledige inhibitie werd nochtans niet bekomen zelfs niet met 40 mg/liter.

Enkele proeven werden dan ingezet met griseofulvine, om de werking bij meloenen tegen de Fusariose na te gaan *in vivo*.

In een eerste steekproef werden 4 series van 20 planten op verschillende manier behandeld. De eerste reeks was controle; in de tweede werden de plantjes 3 maal met griseofulvine (40 mg/l) begoten, in de derde was het zaad vóór het kiemen, 48 uur geweekt in griseofulvine oplossing (40 mg/l); in de vierde reeks werd het zaad geweekt en daarna de plantjes begoten met de griseofulvine oplossing.

Nadat de plantjes een achttal dagen waren ingepot werd een besmetting uitgevoerd door begieting met een suspentie van conidiën van Fusarium oxysporum uit meloen.

Na een maand waren de controle planten; alsmede de planten waarvan het zaad alleen maar geweekt werd afgestorven.

Van de plantjes welke we enkel begoten hadden bleven er nog 5 op 20 gezond, bij de reeks geweekt zaad en begoten nog 2. Dezelfde proef werd terug ingezet in respectievelijk gesteriliseerde en niet gesteriliseerde bladgrond. In de niet gesteriliseerde bladgrond gebruikten we 40 plantjes per serie, in de gesteriliseerde 50 per serie.

Daar een achttal dagen na het inpotten reeds een paar plantjes afstierven door Fusarium en bij de proef, de potjes welke niet ontsmet waren, klaarblijkelijk besmet bleven van vroegere proeven zo voerden we geen extra infektie uit. Uit deze proef kan het gevaar van het aanwenden van niet ontsmette potten in de praktijk blijken.

Hierna volgen de uitslagen van beide proeven :

A. *In niet gesteriliseerde grond, aantal gezonde planten na 1 maand*

1. Controle : 12 op 40 planten nog gezond.
2. Begoten met griseofulvine : (40 mg/l) 19 op 40
3. Zaad geweekt : 13 op 40
4. Zaad geweekt en plantjes begoten : 2 op 40

B. *In gesteriliseerde grond*

1. Contrôle : 16 op 50 planten nog gezond
2. Begoten met griseofulvine : 28 op 50
3. Geweekt niet begoten : 14 op 50
4. Begoten en geweekt : 3 op 50

Uit deze twee proeven kan men misschien besluiten dat het begieten alleen wel een invloed heeft. Het weken weinig of geen en het begieten en het weken eerder schadelijk. Verder onderzoek hiervoor gaat door.

SAMENVATTING

In de streek van Merelbeke (bij Gent) alsook in het Mechelse worden de laatste jaren de meloenen sterk aangetast door een Fusarium oxysporumtype.

De meeste bedrijven zijn besmet. Vaak kunnen nog gezond uitziende planten reeds aangetast zijn.

Het zaad, zelfs uit zieke bestanden, is daarentegen meestal niet besmet.

Bij een onderzoek *in vitro* bleek dat de optimum temperatuur voor de uitgroei van de schimmel zich tussen 25 à 30° C bevindt, de invloed van de pH was daarentegen maar zeer gering.

Bij besmettingsproeven nochtans ging de besmetting sneller door bij pH 4,3–4,6 dan bij pH 6,5–7 en het traagst bij pH 8–8,5. Buiten meloen konden we met de geisoleerde Fusarium cultuur geen andere cucurbitaceën (kolokwint, komkommer, en pompoen variëteiten) besmetten.

Beproefd werd voor de bestrijding fungiciden in de grond te mengen juist vóór het inpotten.

In een eerste reeks proeven testen we TMTD, Nabam, oxychibolinesulfaat, Brassicol (basis = pentachloronitrobenzeen), nirit (basis : organische cyaanverbinding) en Germisan (organische kwikverbinding).

In verdere reeksen ook ceresan, aaventa (beide organische kwikpreparaten) — Bulbosan en Captan.

Hieruit bleek dat alhoewel geen volledige toch een goede bescherming kon bekomen worden met organische kwikprepataten (1 gr in de grond gemengd of door begieten met een oplossing van 1 gr/l water).

Doorgaans bekwamen we ook goede resultaten met Brassicol (1 g à 5 g/kg grond). Ook Bulbosan (1 enkele proef) was hoopvol.

Tenslotte werden ook enkele proeven uitgevoerd met Griseofulvine (systemisch fungicide en antibioticum).

Het weken van het zaad in een griseofulvineoplossing (40 ppm) had geen invloed op de besmetting. Het begieten van de potjes met een oplossing scheen wel een lichte werking te hebben. Weken en begieten samen bevoordeligden de besmetting.

RESUME

La Fusariose du Melon

Depuis quelques années les melons cultivés dans la région de Merelbeke (lez Gand) et de Malines sont fortement attaqués par Fusarium, type oxysporum.

La plus grande partie des cultures y sont infectées. Souvent des plantes préconisées saines peuvent déjà être atteintes par cette maladie. Par contre, la semence, même provenant de plantes infectées, ne semble pas transmettre le champignon.

En *vitro* la température optimum pour l'accroissement du mycelium se situe entre 25 et 30° C, l'influence du pH n'étant que faible.

Cependant que dans nos essaies d'infection la maladie se propageait plus vite à un pH 4,3-4,6 qu'à 6,5-7. Elle était encore plus lente à un pH 8-8,5.

A part le melon notre souche de Fusarium oxysporum ne semble pas être infectueuse pour d'autres cucurbitacées p.e. concombre, coloquinte, citrouille.

Comme moyen de lutte nous avons essayé l'introduction de fongicides dans le sol avant le repiquage.

Dans une première serie nous avons utilisé les produits suivants : T M T D; Nabam; sulfate d'oxychinoline; Brassicol; (a base de pentachloronitrobenzène); Nirit (cyanure organique) et le Germisan (à base de mercure organique) voir page oo et dans d'autres series Ceresan; Aaventa; produits à base de mercure organique), puis Bulbosan et Captan.

De ces expériences il ressort que les produits à base de mercure organique donnent de bonnes perspectives comme moyen de lutte sans donner des résultats absolus. (1 gr. mélangé par kg de terre ou par arrosage avec une solution de 1 gr/litre).

Aussi avec le Brassicol (1 à 5 gr/kg) et le Bulbosan nous avons généralement obtenu de bons résultats.

Quelques essais effectués avec la griseofulvine n'ont pas donné les résultats attendus.

SUMMARY

A Fusariose of Melon

In recent years the melons cultivated in the region of Merelbeke (Ghent) and Malines are strongly attacked by a Fusarium oxysporum type.

The disease occurs in most of the nurseries and even healthy looking plants may already be infected. The seeds, however even from plants out of infected glasshouses are mostly free of Fusarium.

The optimum t° for growth of the mycelium seems to be between 25° and 30° C. The influence of the pH is negligable at least *in vitro*.

In infection experiments, the plants develop the disease symptoms more rapidly in soil with pH 4,3–4,6 than for higher pH values.

Other cucurbitaceae, besides melons, could not be infected by the isolated Fusarium type.

To control the disease, fungicides were mixed into the soil. These experiments showed that organic mercurials give a good but not a complete protection.

Good results are also obtained with Brassicol (pentachlorinitrobenzene).

Griseofulvin inhibited the growth of Fusarium *in vitro* but did not check the disease on plants.

STUDIE VAN DOTHICHIZA

door

R. Veldeman en W. Welvaert

A. ISOLATIES VAN SCHORSBRAND OP TWIJGEN EN STAMMETJES

Daar bij een eerste isolatie van schorsbrand naast 35% Dothichiza eveneens 24% Cytospora voorkwam, en in de literatuur het samen voorkomen van beide schimmels regelmatig vermeld wordt, trachtten we door een 10-tal isolaties uit te maken in hoever beide schimmels oorzaak waren van de schorsbrand.

Daartoe bepaalden we de flora vooreerst van een aangetast stammetje van Populus robusta in het najaar (monster 1). Daarnaast eveneens van een geïnfecteerde tak in het najaar doch nadat deze gedurende 4 maand op het laboratorium droog bewaard werd (monster 2). Tenslotte van 8 monsters in het voorjaar genomen op geïnfecteerd materiaal dat in de kwekerij overwinterde (monsters 3-10).

Voor de isolaties sneden we de schors van geïnfecteerde plaatsen in kleine stukjes, welke na ontsmetting in javelwater op een voedingsbodem werden uitgelegd.

Als uitplaatbodem gebruikten we moutagar met daarin wat tarwekorrels. Volgende tabel geeft de flora van 10 monsters.

Monsters

Het voorkomen van Dothichiza was :

Bij monster 1 :	35%	monster 6 :	67%
2 :	23%	7 :	70%
3 :	45%	8 :	48%
4 :	53%	9 :	24%
5 :	13%	10 :	36%

Het voorkomen van Cystospora beperkte zich tot bij monster 1 : 24% en bij monster 7 : 1%. Daarnaast kwamen dan Alternaria in vrij hoge procenten en Phoma en Cladiosporium nog in beduidende procenten voor.

	MONSTERS									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Dothichiza	42	43	31	41	9	51	65	32	16	9
Cytospora	28	—	—	—	—	—	1	—	—	—
Phoma	3	53	1	—	2	1	1	—	18	10
Myxosporium	4	3	—	1	-	1	—	1	—	—
Alternaria	5	19	25	11	36	13	12	17	11	2
Dicoccum	—	12	—	—	1	—	—	—	—	—
Pullularia	—	28	1	—	—	—	—	2	6	—
Cladosporium	1	—	2	23	7	6	4	1	5	1
Chaetomium	4	7	4	1	—	—	1	3	—	1
Epicoccum	—	—	4	—	7	5	7	6	8	—
Aspergillus	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—
Fusarium sp.	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—
Stemphylium	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—
Penicillium	11	—	—	—	—	—	—	—	—	1
Stachybotrys	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—
Mucor	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1
Periconia	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—
Fusarium oxy.	11	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fus. equiseti	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Graphium sp.	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Camerosporium	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Verticillium	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Cylindrocarpon	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nectria	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—
Pleospora	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Trichoderma	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—
Botrytis	—	4	—	—	—	—	—	—	—	—
Fusicoccum	1	1	—	—	—	—	—	—	—	
Rhizoctonia	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—
N. ged. cult.	6	1	1	—	3	—	1	3	—	—
	118	191	70	77	66	77	93	67	61	25

B. ONDERZOEK OP SPORENKIEMING

Daar het kiemen der sporen een eerste belangrijke factor is bij de infectie, bepaalden we de sporenkieming in verschillende omstandigheden. Hierbij gingen we de invloed na van cultuur filtraat van schimmels, licht, temperatuur, uitdrogen en pH.

I. Onderzoekingsmethode

1. De preparaatjes

Hiertoe gebruikten we uitgeholde draagglaasjes.

Op de uitgeholde vlakte werd met een glazen staafje een druppel van een sporensuspensie in water gelijkmatig openge-

streken. Onder het microscoop controleerden we of voldoende sporen aanwezig waren. Daarna werden deze vastgelegd met een druppel agarbodem. Om de inwerking van bepaalde stoffen op de kieming te onderzoeken, werden deze laatste in gekende concentraties in de agarbodem gemengd en bedekten we de sporen met een druppel van deze bodem.

2. De kieming

Om te beletten dat de preparaatjes gedurende de kieming zouden uitdrogen brachten we deze in een vochtverzadigde ruimte. Hiertoe gebruiken we plastieken doosjes met daarin onderaan een laag vochtige watte. De preparaatjes komen hierin op overlangsliggende glaasjes te liggen, dicht bij de vochtige watte zonder er nochtans mede in aanraking te zijn. Bij het afsluiten van de doos vormt zich condenswater zodat we mogen aannemen dat de ruimte vochtverzadigd is. De gesloten doosjes werden dan in broeikassen aan 24° C te kiemen gezet, behalve in de gevallen waar de invloed van de temperatuur gedurende de kieming werd onderzocht.

3. Tellen der gekiemde sporen

Het tellen der sporen gebeurde met het microscoop bij zwakke vergroting. De uitgeholde draagglaasjes werden met de holle kant naar onder gelegd, zodoende zagen we de sporen gemakkelijker scherp doorheen de glazen bodem dan doorheen de agardruppels.

Daar het gezichtsveld bij zwakke vergroting een vrij groot aantal sporen bevatte maakten we gebruik van een speciaal meetocculair. Dit occulair verdeelt het gezichtsveld in 4, door een vaste kruisdraad en heeft een verstelbare lijn tegenover een schaal.

Dit vergemakkelijkt grotendeels het tellen der aanwezige sporen (gekiemde en niet gekiemde), in het gezichtsveld, daar men bepaalde gebieden kan afbakenen. Het aantal sporen dat geteld werd was afhankelijk van de verkregen resultaten op het zicht geschat. In normale gevallen werden een vijftal gezichtsvelden willekeurig in het preparaatje genomen en met ongeveer dezelfde dichtheid geteld. Dit gaf gemiddelden van 500 tot 1.000 sporen per monster. Wanneer een duidelijke invloed op de uitgroei van de kiembuis waargenomen werd deelden we deze in verschillende lengteklassen in.

Daar de kiembuis zich niet steeds in het scherp gesteld vlak ontwikkelt, is het nodig voortdurend de scherpte bij te regelen. Daar we meteen het preparaatje moeten verstellen en het micro-

scoopveld afzoeken met bovenvermelde verstelbare lijn van het occulair, maakten we voor het tellen gebruik van een elektrische teller met voetbediening.

4. De gebruikte cultures

De sporen die geteld werden waren afkomstig uit vruchtlichamen gewonnen op cultures welke we bij de uitplatingen van aangetaste takken isoleerden. Deze cultures waren afgeënt op moutagar in proefbuisjes en vormden vrij vlug vruchtlichamen.

Daar we ondervonden dat de rijpheid van de vruchtlichamen een invloed had op de sporenkieming, trachtten we steeds goed gerijpte cultures te gebruiken en werden voor de verschillende proeven altijd onbehandelde controles ingesteld.

Meerdere vruchtlichamen in enkele cc. water uitgespoeld gaven suspensies rijk aan sporen.

Opvallend is dat bij deze schimmel Dothichiza de controle altijd van 90 tot 100% gekiemd was.

II. Invloed van het cultuurfiltraat van schimmels

Van verschillende schimmels welke naast Dothichiza op schorsbrand geïsoleerd werden, alsmede van enkele andere, zetten we vloeibare cultures aan, om de invloed van het cultuurfiltraat op de kieming na te gaan.

Als cultuurbodem namen we :

1 liter water
10 g havermout
100 g KNO_3
100 g $(NH_4)_2SO_4$

25 ml per erlenmeyer van deze bodem werd ingeënt en na 1 maand afgefiltreerd. Het filtraat mengden we in verhouding 1/1 met een gewone agarbodem. De sporen op het draagglaasje werden met enkele druppels van deze bodem bedekt en te kiemen gesteld. Na 24 uur incubatie aan 24° C bekwamen we aldus volgende resultaten :

Met *Cytospora*

Geen verschil met controle
Zelfde resultaat met cultuurfiltraat van 2 maand oud
Contrôle : praktisch 100% kieming.

Met *Phoma*

Monster 1	gekiemd :	255	hetzij	60%;	niet gekiemd :	167	hetzij	40%
2	,,	238	,,	61%;	,, ,,	151	,,	39%
3	,,	328	,,	64%	,, ,,	220	,,	36%
4	,,	216	,,	57%;	,, ,,	167	,,	43%
5	,,	378	,,	61%;	,, ,,	238	,,	39%

Contrôle : gemiddeld 95% gekiemd.

Met *Nectria*

Monster	1	gekiemd :	523	hetzij	73%;	niet gekiemd :	188	hetzij	27%
	2	,,	413	,,	77%;	,, ,,	123	,,	23%
	3	,,	521	,,	72%;	,, ,,	202	,,	28%
	4	,,	706	,,	75%;	,, ,,	276	,,	25%
	5	,,	482	,,	78%;	,, ,,	146	,,	22%

Contrôle : praktisch 100% kieming.

Met *Penicillium funiculosum*

Monster	1	gekiemd :	235	hetzij	85%;	niet gekiemd :	43	hetzij	15%
	2	,,	247	,,	82%;	,, ,,	54	,,	18%
	3	,,	198	,,	80%;	,, ,,	48	,,	20%
	4	,,	268	,,	79%;	,, ,,	72	,,	21%
	5	,,	308	,,	83%;	,, ,,	63	,,	17%

Contrôle : praktisch 100% gekiemd.

Met *Fusarium scirpi*

Monster	1	gekiemd :	330	hetzij	43%;	niet gekiemd :	456	hetzij	52%
	2	,,	289	,,	48%;	,, ,,	314	,,	52%
	3	,,	260	,,	48%;	,, ,,	282	,,	52%
	4	,,	330	,,	45%;	,, ,,	386	,,	55%
	5	,,	386	,,	42%;	,, ,,	534	,,	58%

Contrôle 100% kieming. De kiembuis is voor eenzelfde incubatietijd langer uitgegroeid dan bij de behandelde monsters.

Met *Fusarium sambucinum*

Monster	1	gekiemd :	366	hetzij	74%;	niet gekiemd :	128	hetzij	26%
	2	,	222	,	78%;	,, ,,	120	,,	22%
	3	,,	342	,,	78; %,,	,,	98	,,	22%
	4	,,	288	,,	79%;	,, ,,	82	,,	21%
	5	,,	412	,,	88%;	,, ,,	106	,,	12%

Met *Epicoccum*

Monster	1	gekiemd :	472	hetzij	58%;	niet gekiemd :	341	hetzij	42%
	2	,,	583	,,	52%;	,, ,,	535	,,	48%
	3	,,	484	,,	52%;	,, ,,	451	,,	48%
	4	,,	455	,,	52%;	,, ,,	415	,,	48%
	5	,,	634	,,	52%;	,, ,,	586	,,	48%

Contrôle : 95% tot 100% kieming. De kiembuis der behandelde monsters is korter dan deze der contrôlemonsters.

Met *Alternaria*

Monster	1	gekiemd :	56	hetzij	11%;	niet gekiemd :	476	hetzij	89%
	2	,,	34	,,	8%;	,, ,,	382	,,	92%
	3	,,	34	,,	8%;	,, ,,	408	,,	92%
	4	,,	48	,,	9%;	,, ,,	512	,,	91%
	5	,,	61	,,	10%;	,, ,,	518	,,	90%

Contrôle : 92 tot 95% kieming. De kiembuizen van behandelde monsters zijn zeer sterk geremd t.o.v. de controle.

Met *Curvularia*

Monster	1	gekiemd :	248	hetzij	23%;	niet gekiemd :	811	hetzij	77%
	2	,,	191	,,	24%;	,, ,,	602	,,	76%
	3	,,	181	,,	21%;	,, ,,	674	,,	79%
	4	,,	292	,,	20%;	,, ,,	1205	,,	80%
	5	,,	206	,,	21%;	,, ,,	774	,,	79%

Contrôle : praktisch 100% gekiemd. Kiembuis van behandelde monsters zeer sterk geremd.

Met *Trichoderma*
Monster 1 tot 5 geen verschil met controle, praktisch 100% gekiemd.

Met *Pestalotia*
Monsters 1 tot 5, 100% kieming met normaal uitgegroeide kiembuizen.

Als controle werd tevens het filtraat van de gebruikte bodem zonder schimmelbegroeiing getest. Dit filtraat had geen invloed op de sporenkieming.

De begroeiing van de bodems gaf geen extreme pH waarden zodat we de remming op de kieming wel aan inwerking van de schimmels zelf mogen toeschrijven.

III. Invloed van het licht

1. Invloed van kleurenbelichting

In belichtingskassen met verschillende kleuren, werden telkens 5 monsters gedurende 24 uur te kiemen gezet. Steunend op het aantal lumen werd de lichtintensiteit op gelijke sterkte gebracht door het gebruik van meerdere lampen van éénzelfde kleur of het evenredig afdekken van te sterke lampen. Als vergelijkingspunt namen we een 20 watt gewoon daglichtlamp.

We beproefden hierbij volgende kleuren : rood, blauw,acteniek blauw, groen, geel en daglicht (neon).

De sporen werden op draagglaasjes uitgespreid in een fijn agarbodemlaagje en ingesloten in een plastiek doorschijnend doosje met daarin 100% relatieve vochtigheid. en zo in de kassen gezet. Algemeen viel geen remming op de kieming vast te stellen.

1. sporen gedurende 24 uur gekiemd bij *rood licht*
   Monster 1 : 95% gekiemd
   2 : 95% gekiemd
   3 : 97% gekiemd
   4 : 99% gekiemd
   5 : 97% gekiemd
   Praktische alle sporen gekiemd.

2. Sporen gedurende 24 uur gekiemd bij *blauw* (acten) *licht*
   Monster 1 : 95% gekiemd
   2 : 98% gekiemd
   3 : 95% gekiemd
   4 : 100% gekiemd
   5 : 98% gekiemd
   Praktisch alle sporen gekiemd

3. Sporen gedurende 24 uur gekiemd bij *gewoon blauw licht*.
   Alle monsters praktisch 100% gekiemd.

4. Sporen gedurende 24 uur gekiemd bij *groen licht*.
   Monster 1 : 506 gekiemd —97%, niet gekiemd (17—3%)
   2 : 95% gekiemd
   3 : 95% gekiemd
   4 : 97% gekiemd
   5 : 95% gekiemd

5. Sporen gedurende 24 uur gekiemd bij *geel licht.*
Monsters 1, 2, 3, 4 en 5 praktisch allen 100% gekiemd.

6. Sporen gedurende 24 uur gekiemd bij *daglicht.*
Monster 1, 2, 3, 4 en 5, 100% gekiemd.

De verschillende kleuren blijken dus de kieming van de sporen niet te beïnvloeden. Ook de uitgroei van de kiembuis was in al de gevallen normaal.

2. Invloed van U.V.-licht

Bestraling met Ultra Violet licht bleek een zeer grote invloed te hebben.

Reeds bij bestraling gedurende 1 minuut van de sporen op een draagglaasje kiemden nog amper enkele sporen. Hierbij kwamen de sporen op ongeveer 5 cm van een lamp van 30 watt te liggen, onder een kap.

Om eventuële invloed van U.V.-licht van de zon na te gaan, werden monsters bedekt met glas, en rechtstreeks gedurende 30 minuten aan het zoclicht blootgesteld. Hierbij viel geen invloed op de kieming waar te nemen.

IV. Invloed van de Temperatuur

Wat de temperatuur betreft beschouwden we vooreerst de invloed op de sporen in de vruchtlichamen. Daartoe werden culturen in proefbuisjes waarin zich vruchtlichamen bevonden behandeld in een warmwater-bad aan verschillende temperaturen. De onderdompelingstijd namen we 30 minuten, zodat we mogen aannemen dat gedurende deze tijd de vruchtlichamen op de temperatuur van het water kwamen. De controle niet behandelde sporen gaven praktisch 100% kieming.

Proef 1 :

Cultuur gedurende 30 minuten in warmwaterbad aan 25° C. Bij de 4 monsters waren de sporen praktisch 100% gekiemd met normale uitgroei van de kiembuis.

Proef 2 :

Cultuur gedurende 30 minuten in warmwaterbad aan 30° C. De 4 monsters sporen waren praktisch 100% gekiemd, normale uitgroei van de kiembuis.

Proef 3 :

Cultuur gedurende 30 minuten in warmwaterbad aan 35° C.

Monster 1	: gek. sporen :	476	hetzij 55%;	niet gek. sporen :	390 of 45%
2	,, ,,	464	,, 57%;	,, ,, ,,	346 of 43%
3	,, ,,	460	,, 56%;	,, ,, ,,	362 of 44%
4	,, ,,	496	,, 59%;	,, ,, ,,	348 of 41%
5	,, ,,	685	,, 56%;	,, ,, ,,	534 of 44%

gemiddelde gekiemde sporen = 57%.

De gekiemde sporen hebben een normaal uitgegroeide kiembuis.

Proef 4 :

Cultuur gedurende 30 minuten in warmwaterbad aan 40° C.

Monster 1 : gek. sporen :	220	hetzij 38%;	niet gek. sporen :	357	of 62%
2 ,, ,,	245	,, 35%;	,, ,, ,,	461	of 56%
3 ,, ,,	101	,, 32%;	,, ,, ,,	221	of 68%
4 ,, ,,	228	,, 37%;	,, ,, ,,	378	of 63%
5 ,, ,,	150	,, 33%;	,, ,, ,,	308	of 67%

gemiddelde gekiemde sporen = 35%.

De gekiemde sporen hebben een kiembuis kleiner dan 20 micr. en dikwijls is de spore slechts uitgesproken aangespitst.

Proef 5 :

Cultuur gedurende 30 minuten in warmwaterbad aan 45° C. De 4 monsters, de sporen zijn 100% niet gekiemd.

In deze proeven vonden we derhalve dat de sporen in het vruchtlichaam door temperaturen tot 30° C niet gedood werden, bij 35° C gemiddeld voor 43% gedood, bij 40° gemiddeld 65% en vanaf 45° 100% gedood worden.

Verder onderzochten we de invloed van de temperatuur gedurende de kieming.

Hiertoe werden de sporen 24 uur te kiemen gesteld in thermostabiele kassen aan temperatuur van 0 à 1° C; 10° C; 20° C; 25° C; 30° C; 35° C;en 40° C.

De contróle proef is ingesteld aan 25° en geeft praktisch volledige kieming.

1. 24 uur kieming aan 0 tot 1° C

Monster 1, 2, 3, 4 en 5 : geen enkele spore gekiemd, hoogstens enkele sporen spitsvormig aangenlopen.

2. 24 uur kieming aan 5° C

Monster 1 : gek. sporen :	473	hetzij 78%;	niet gek. sporen :	139	of 22%
2 ,, ,,	577	,, 77%;	,, ,, ,,	178	of 26%
3 ,, ,,	513	,, 78%;	,, ,, ,,	140	of 22%
4 ,, ,,	465	,, 77%;	,, ,, ,,	140	of 23%
5 ,, ,,	534	,, 76%;	,, ,, ,,	166	of 24%

10% der gekiemde sporen hebben kiembuis kleiner dan 20 micr.

3. 24 uur kieming aan 10° C

Monster 1 : gek. sporen :	492	hetzij 95%;	niet gek. sporen :	28	of 5%
2 ,, ,,	268	,, 97%;	,, ,, ,,	13	of 3%
3 ,, ,,	420	,, 90%;	,, ,, ,,	47	of 10%
4 ,, ,,	398	,, 95%;	,, ,, ,,	22	of 5%

De kiembuizen zijn hierbij beperkt tot een uitgroei van 50 micr. het aantal kleiner dan 20 micr. is te verwaarlozen.

Op te merken valt dat bij de controle de kiembuizen na 24 uur praktisch allen groter zijn dan 50 micr.

4. 24 uur kieming aan 20° C

Monster 1 :	gekiemde sporen met normale uitgroei van de kiembuis :	95%
2	,, ,, ,, ,, ,, ,, ,, ,,	97%
3	,, ,, ,, ,, ,, ,, ,, ,,	94%
4	,, ,, ,, ,, ,, ,, ,, ,,	95%
5	,, ,, ,, ,, ,, ,, ,, ,,	98%

5. **Sporen na 24 uur kieming aan 25° C**

Is de normale controle proef die we in al onze kiemproeven inzetten en die steeds praktisch 100% kieming gaf.

6. **24 uur kieming aan 30° C**

Monster 1	: gekiemde sporen met normale uitgroei van de kiembuis :	98%
2	,, ,, ,, ,, ,, ,, ,, ,,	98%
3	,, ,, ,, ,, ,, ,, ,, ,,	95%
4	,, ,, ,, ,, ,, ,, ,, ,,	98%
5	,, ,, ,, ,, ,, ,, ,, ,,	98%

7. **24 uur kieming aan 35° C**

Monster 1	: gek. sporen :	96	hetzij 36%;	niet gek. sporen :	169	of	64%
2	,, ,,	115	,, 46%;	,, ,, ,,	134	of	54%
3	,, ,,	108	,, 43%;	,, ,, ,,	144	of	57%
4	,, ,,	146	,, 37%;	,, ,, ,,	249	of	63%
5	,, ,,	136	,, 40%;	,, ,, ,,	204	of	60%

De kiembuis blijft bij de gekiemde sporen doorgaans kleiner dan 20 micr.

8. **Sporen na 24 uur kieming aan 40° C**

Monster 1, 2, 3, 4 en 5 geen enkele spore meer gekiemd.

Uit deze proeven blijkt dat de kieming van de sporen tot op 10° en 5° nog zeer goed doorgaat (respectievelijk 96 en 77%). Dit is wel belangrijk met het oog op de winterbesmetting, periode dat de boom wegens zijn groeistilstand het meest vatbaar is voor besmetting.

De invloed van temperaturen beneden 0° werd afzonderlijk onderzocht.

Een cultuur met rijpe vruchtlichamen legden we gedurende 5 dagen in de ijskast aan —4° C. De sporen uit de aldus behandelde vruchtlichamen werden daarna 24 uur te kiemen gesteld aan 25° C.

Deze proef deden we 2 maal met telkens 3 monsters. Dit gaf volgende procenten in de kieming :

1ste reeks

Monster 1	gekiemd :	248	hetzij 46,5%;	niet gekiemd :	287	hetzij	54%
2	,,	485	,, 47 %;	,, ,,	550	,,	53%
3	,,	372	,, 45 %;	,, ,,	452	,,	55%

2de reeks :

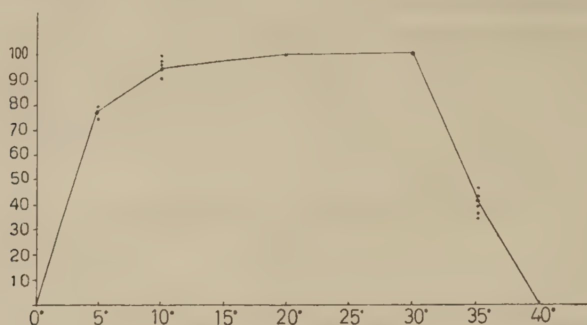
Monster 1	gekiemd :	298	hetzij 41%;	niet gekiemd :	445	hetzij	59%
2	,,	258	,, 43%;	,, ,,	477	,,	57%
3	,,	423	,, 47%;	,, ,,	472	,,	53%

Het bevriezen van een sporensuspentsie gedurende 24 u gaf ongeveer dezelfde verhoudingen nl. :

3e reeks :

Monster 1	gekiemd :	199	hetzij 50%;	niet gekiemd :	194	hetzij	50%
2	,,	208	,, 48%;	,, ,,	228	,,	52%
3	,,	178	,, 48%;	,, ,,	196	,,	52%
4	,,	212	,, 50%;	,, ,,	214	,,	50%
5	,,	226	,, 50%;	,, ,,	230	,,	50%

Het blootstellen aan vorst blijkt in de verschillende herhalingen een vrij stabiele invloed te hebben op de kiembaarheid der sporen. In al de gevallen waren minstens 50% van de sporen gedood.



Graphiek I
Invloed van temperatuur

V. Invloed van het uitdrogen der sporen

Daar de resistentie tegen uitdrogen een belangrijke faktor is voor infektie mogelijkheden trachtten we hieromtrent enige aanduidingen te bepalen.

Daartoe werden de sporen opengestreken op een draagglaasje en gedurende 1 u; 2 u; 5½ u; 20 u en 5 dagen uitgedroogd aan de lucht. Na deze tijd bedekten we de sporen met een druppel voedingsbodem en stelden ze te kiemen op de gewone wijze.

Bij de tellingen der gekiemde en niet gekiemde sporen bleek de spreiding der procenten bij de 5 herhalingen groter dan in de proeven op andere factoren. Misschien heeft hiet de dichtheid op het preparaatglaasje wel een invloed.

Controle

Monster	1	gekiemd :	625	hetzij	95%;	niet gekiemd :	32	hetzij	5%
	2	„	555	„	93%;	„ „	44	„	7%
	3	„	629	„	92%;	„ „	55	„	8%
	4	„	439	„	95%;	„ „	19	„	5%
	5	„	608	„	95%;	„ „	29	„	5%

1 uur uitgedroogd

Monster	1	gekiemd :	262	hetzij	42%;	niet gekiemd :	262	hetzij	58%
	2	„	208	„	35%;	„ „	394	„	65%
	3	„	256	„	45%;	„ „	298	„	55%
	4	„	285	„	54%;	„ „	242	„	56%
	5	„	176	„	35%;	„ „	331	„	65%

2 uur uitgedroogd

Monster	1	gekiemd :	210	hetzij	41%;	niet gekiemd :	300	hetzij	59%
	2	„	361	„	59%;	„ „	249	„	41%
	3	„	260	„	40%;	„ „	391	„	60%
	4	„	198	„	46%;	„ „	228	„	54%
	5	„	230		46%;	„ „	286	„	54%

5 1/2 uur uitgedroogd

Monster	1	gekiemd :	143	hetzij	25%;	niet	gekiemd :	443	hetzij	75%
	2	,,	124	,,	25%;	,,	,,	378	,,	75%
	3	,,	164	,,	24%;	,,	,,	521	,,	76%
	4	,,	133	,,	23%;	,,	,,	456	,,	77%
	5	,,	108	,,	26%;	,,	,,	312	,,	74%

20 uur uitgedroogd
10% kieming.

Na 5 dagen uitdrogen
nog 5 à 10% kieming.

De preparaatjes 20 u en 5 dagen uitgedroogd, waren zeer onregelmatig gekiemd. Naar schatting waren na 20 uur nog gemiddeld 10% gekiemd, terwijl na 5 dagen in sommige preparaatjes nog 5% in andere nog tot 10% der sporen gekiemd waren.

Dit toont ons in elk geval dat na een betrekkelijk lange uitdroging op een glaasje, waarbij de uitdroging nog wel effectiever zal zijn dan eventueel op stammen of twijgen in de natuur, de sporen nog tot 10% kunnen kiemen en infektie veroorzaken.

VI. Invloed van de pH op de kieming

Om de invloed van de pH op de kieming na te gaan werden de sporen uitgestreken op een draagglaasje en bedekt met enkele druppels voedingsbodem welke we vooraf met phosphaatbuffers, citroenzuur en natriumbicarbonaatbuffers op verschillende pH brachten. De verandering in pH door 24 u incubatietijd was vrij onbeduidend; we gingen aldus de kieming na bij volgende pH-waarden. 2,7; 3,2; 3,85; 4, 6,4; 7; 7,4; 8,2 en 8,5.

Controle 95—98% gekiemd.

pH 2,7 : geen kieming.

pH 3,2 :

Monster	1	gekiemd :	223	hetzij	63%;	niet	gekiemd :	134	hetzij	37%
	2	,,	272	,,	63%;	,,	,,	162	,,	37%
	3	,,	472	,,	68%;	,,	,,	223	,,	32%
	4	,,	230	,,	60%;	,,	,,	152	,,	40%
	5	,,	358	,,	66%;	,,	,,	186	,,	34%

Het gemiddelde der gekiemde monsters = 64%.

pH 3,85 (citroenzuur)

Monster	1	gekiemd :	305	hetzij	89%;	niet	gekiemd :	37	hetzij	1%
	2	,,	287	,,	90%;	,,	,,	34	,,	10%
	3	,,	348	,,	90%;	,,	,,	38	,,	10%
	4	,,	224	,,	90%;	,,	,,	23	,,	10%
	5	,,	278	,,	90%;	,,	,,	31	,,	10%

Gemiddelde gekiemd 90%.

pH 4 : gekiemd 100%.

pH 6,4 : gekiemd 100%.

pH 7

Monster	1	gekiemd :	347	hetzij	64%;	niet gekiemd	:	194	hetzij	36%
	2	,,	300	,,	68%;	,,	,,	140	,,	32%
	3	,,	248	,,	67%;	,,	,,	121	,,	33%
	4	,,	308	,,	68%;	,,	,,	146	,,	32%
	5	,,	367	,,	69%;	,,	,,	164	,,	31%

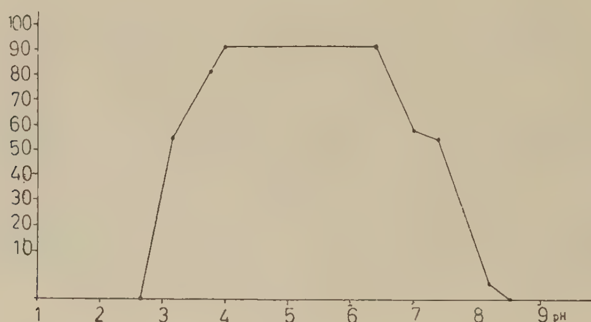
pH 7,4

Monster	1	gekiemd :	206	hetzij	66%;	niet gekiemd	:	159	hetzij	44%
	2	,,	146	,,	63%;	,,	,,	129	,,	47%
	3	,,	218	,,	57%;	,,	,,	164	,,	43%

pH 8,2 : gekiemd 5%.

pH 8,5 : geen kieming.

Uit deze gegevens blijkt dat Dothichiza-sporen gemakkelijk kiemen tot betrekkelijk lage pH. In meer alkalisch midden is er echter zeer vlug remming, en reeds bij pH 8,2 valt de kieming op 5%. Deze grote gevoeligheid voor alkaliniteit biedt misschien een mogelijke bestrijdingsmethode door het bekalken der stammetjes om infektie te voorkomen, de tijd rond de verplanting.



Graphiek II
Invloed van PH

SAMENVATTING

Studie van Dothichiza

Vooraleer een meer uitgebreid onderzoek omtrent de populieren-schorsbrand veroorzaakt door Dothichiza Populnea aan te vangen, bleek het ons nuttig enkele aspecten van de schimmel *in vitro* na te gaan.

Hiertoe werden een 10-tal isolaties gedaan van schorsbrand op stammetjes en twijgen en het procentisch voorkomen van Dothichiza en andere schimmels bepaald.

Daar bij de verspreiding van de ziekte de sporenvorming en sporenkieming van Dothichiza een zeer grote rol speelt, gingen we de invloed na van verschillende factoren op de kieming van de sporen.

Vooreerst lieten we de sporen kiemen in aanwezigheid van het cultuurfiltraat van de geïsoleerde schimmels. In meerdere gevallen bleek dit zeer sterk te remmen. Daarna werden verschillende œkologische factoren getest. Er blijkt geen invloed te zijn van licht en kleurlicht, U.V. echter was zeer effectief. Bij het nagaan van de temperatuursinwerking op vruchtlichamen en vrije sporen, alsmede gedurende de kieming, ondervonden we een belangrijke uitval bij temperaturen lager dan 0° maar tevens een vrij hoge kieming en groei vanaf 5° à 10° C.

Bij meer dan 30° à 35° C kregen we weinig of geen kieming meer.

Het uitdrogen van de sporen vooraleer ze in een vochtige ruimte te kiemen werden gezet gaf natuurlijk een sterke remming nochtans konden we na 5 dagen uitdrogen soms nog tot 10% kieming vaststellen.

Merkwaardig was de invloed van de pH van het midden waarin de sporen kiemen. Hoger dan pH 3,5 krijgen we reeds een hoog procent kieming, doch dit procent daalt vlug vanaf pH 7 om bij pH 8 op 5% en bij pH 8,5 tot 0% terug te vallen.

De alkaliniteit van het midden blijkt dus een zeer sterke invloed te hebben. In verband hiermede zou een eventuele bekalking het infectiegevaar wellicht kunnen verminderen.

RESUME

Etude de Dothichiza

Avant de commencer des essais plus étendus sur la maladie du peuplier causée par Dothichiza populnea, nous avons étudié la physiologie du champignon.

Dans des isolations faites sur une dizaine de branches et de troncs de jeunes peupliers attaqués. le pourcentage de Dothichiza et d'autres champignons à été déterminé. Puisque pour l'extension de la maladie la germination des spores a une grande importance, nous avons poussé nos recherches dans cette direction.

Les filtrats de cultures en milieu aqueux d'autres champignins isolés sur des branches attaquées montraient une grande influence sur la germination des spores de Dothichiza; en certains cas par exemple avec l'Anternaria 90% des spores ne germaient plus.

Quant aux différents facteurs écologiques, l'influence de lumière de différentes longuers d'ondes a paru inexistante. tandis que la lumière U.V. était trés efficace.

Quant à la température, les spores traitées pendant deux jours à une température inférieure à 0° ne germent que pour 50%, tandis que de 5° à 10° C la germination se fait déjà aisément, pour diminuer rapidement au dessus de 35° C.

Bien que la dessication des spores a une grande influence sur la germination nous avons constaté qu'àprès 5 jours de séchage 10% des spores peuvent encore germer.

Le pH avait une influence remarquable; à un pH 3,5, les spores germent déjà presque toutes, tandis que la germination diminue des pH 7 pour atteindre 5% à pH 8.

Etant donné que la germination des spores est fortement inhibée par l'alcalinité, le chaulage de jeunes peupliers est à envisager comme moyen de lutte préventif.

SUMMARY

A Study of Dothichïza

A study was made of Dothichiza populnea parasitic on popular. The fungus flora of different infected samples, and also the antagonism to Dothichiza of culture filtrates of some of these fungi were determined.

Physilogical and œcological data of spore germination were investigated. The influence of normal light was negligable, U.V. on the other hand produced marked inhibition. Spores de not germinate by temperatures lower tanh 0°, and only in small percentages at 30° to 35° C. From 5° to 10° C the germination was very high. Frying alos inhibits spore germination. After 5 days dessication up to 10% could still germinate.

Typical was the influence of the pH of the medium.

Germination occured at pH values lower than 3, 5 at pH 8,5 germination was completely inhibited.

Suggestions are made to use alcalinity, f.i. liming of young trees, as a control measure.

VERGELIJKENDE LABORATORIUM-STUDIE OVER DE PROTECTIEVE FUNGICIDE WERKING VAN ENKELE KOPERPRODUKTEN

door

R. De Loose en J. Voets

Inleiding

Een degelijke laboratoriumtestmethode dringt zich op voor de controle van het steeds groeiend aantal nieuwe fungiciden welke op de markt verschijnen. Anderzijds zal de vooruitgang op het gebied der fungicide produkten grotendeels berusten op het voorhanden zijn van een passende laboratoriummethode.

Tot op heden echter bestaat er geen methode welke toelaat de laboratoriumresultaten rechtstreeks om te zetten in de aan te wenden concentraties op het veld, dit wegens de talrijke faktoren welke daar hun rol gaan spelen. Toch geeft dit onderzoek de eerste richtlijnen nopens de toxische werking op de schimmel, welke toch van primordiaal belang is en vormt dit tevens de eerste stap naar het veld. Het laat toe een reeks produkten, onder identische controlevoorwaarden, in hun fungicide werking te vergelijken en uit de bekomen toxiciteitskurve hun mogelijke manier van werking af te leiden.

Het was dan ook het doel van deze studie aan de hand van uitgebreide laboratoriumproeven een dieper inzicht te verkrijgen omtrent de werking van enkele koperprodukten. Niettegenstaande de vele pogingen en de uitgebreide onderzoekingen die werden aangewend om de reeks van de gekende fungiciden aan te vullen met nieuwe synthetische produkten, blijven de koperverbindingen nog steeds een vooraanstaande plaats innemen in de rij van de protectieve fungiciden.

Door hun afdoende werking bij de bestrijding van vele schimmelziekten waaronder we slechts vermelden de aardappel- en tomatenplaag, de schurft van de appels, de meeldauw van de druivelaar en de hop, hebben de koperprodukten veel bijgedragen tot het schimmelvrij houden van deze kulturen en zijn ze derhalve ook van uitgesproken ekonomisch nut geworden.

Meer speciaal hebben wij het fungicide vermogen nagegaan van de moleculair oplosbare koperprodukten kopersulfaat en

koperchloride in vergelijking met de suspensies van koperoxychloride, basisch kopercarbonaat en koperoxalaat. Alle geteste produkten waren chemisch zuiver en werden onder dezelfde omstandigheden in oplossing gebracht. Derwijze kon een nauwkeurige vergelijking worden doorgevoerd nopens hun respectievelijke toxiciteit.

A. Geteste produkten

Als koperprodukten kwamen in aanmerking :

1. **$CuSO_4$ 5 aq.** „pro analysi"
2. **$CuCl_2$ 2 aq.** „pro analysi"
3. **3 $CuO.CuCl_2.$ x H_2O** :

Dit produkt werd bereid als volgt :

Uitgegaan werd van $CuCl_2$ 2 aq „pro analysi". Een oplossing van dit zout (berekend op nagenoeg 0,1% Cu) werd langzaam geneutraliseerd met een verdunde NaOH-oplossing. Aanvankelijk ontstaat een groen-blauwe oplossing. Op het ogenblik dat de omslag t.o.v. fenolftaleine wordt bereikt (verhouding $\frac{CuO}{Na_2O} = 1/0{,}75$ aequivalenten) vlokt het groen 4 CuO.Cl vrijspoedig uit en zijn alle Cu^{++}-ionen neergeslagen. Ten einde een vergelijking met de overige te testen onoplosbare produkten mogelijk te maken (deze bevatten nl. ook geen Cu^{++}-ionen in oplossing) moest noodzakelijk de neutralisatie van het $CuCl_2$ worden doorgedreven tot op dit punt, maar meteen stelde zich het probleem van het terug dispergeren.

In een „Waring-Blendor" werd 1 ml Renex-emulgator (Renex = poly-aethyleenester van gemengde vet- en resinezuren) aan de suspensie toegevoegd. Na overnachten werd de suspensie, door afgieten van het bezinksel gescheiden en aangelengd tot 1 liter. Dit gaf een heel licht geconcentreerde, min of meer stabiele suspensie, door omschudden gemakkelijk homogeen te maken.

4. Cu-oxalaat

De uitgangsprodukten voor de bereiding waren :

1 — $Cu(OH)_2$ vers bereid uit $CuSO_4$ en een overmaat NaOH.
Dit neerslag werd herhaaldelijk gewassen tot vrij van SO_4^{--}-ionen en alkalische reactie (fenolftaleine).

2 — Oxaalzuur ($C_2H_4O_2$.2 aq).
De neutralisatie van het hydroxyde werd uitgevoerd t.o.v. methylrood als uitwendig indicator. Aldus ontstaat het heel fijn lichtblauw gekleurd neerslag van koperoxalaat dat hoorheen een papierfilter gaat. Een overmaat $Cu(OH)_2$ werd nog in het milieu gebracht en na overnachten afgefiltreerd.
Het emulgeren gebeurde op analoge wijze als voor het oxychloride. De suspensie is echter veel stabieler.

5. $CuCO_3.Cu(OH)_2$.

Het produkt $CuCO_3.Cu(OH)_2$ „pro analysi" werd aangewend. Het komt voor als een fijn groen poeder.
Voor het emulgeren werd hetzelfde modus operandi aangewend als bij het oxychloride.

B. Methode

Het nagaan van de protectieve waarde van een fungicide in het laboratorium (niet deze op het veld, waar de faktoren als de kleefkracht en de fytocide werking een hoofdrol spelen) berust op de genestatische werking ervan t.t.z. het verhinderen van de sporenkieming. Alle laboratoriummethodes gaan uit van sporensuspensies, welke in vloeibare of vaste voedingsbodems in contact worden gebracht met een reeks concentraties van het fungicide.

Een der meest toegepaste technieken voor het nagaan van de fungicide werking is de „slide-germination method" voorgeschreven door de „American Phytopathological Society Comittee on Standardisation of Fungicidal Tests" (1). Volgens deze methode worden draagglaasjes met het fungicide besproeid en gedroogd, waarna er druppels worden opgebracht van een sporensuspensie. Na incubatie in een kiemdoos wordt het percent gekiemde sporen in elke druppel bepaald. De oplosbare fungiciden (moleculair of kolloidaal) kunnen rechtstreeks bij de sporensuspensie gebracht worden en hiervan dan druppels op draagglaasjes volgens de zgn. „test-tube dilution technique" (2).

De methode is gegroeid uit deze van Reddick en Wallace verschenen in 1910 in Science : „On a Laboratory method of Determining the Fungicidal value of a Spray Mixture or Solution". S.E.A. McCallan werkte ze verder uit en onderwierp haar aan een uitgebreid kritisch onderzoek (3, 4, 5, 7).

Thans wordt ze niet alleen in de V.S.A., waar ze omzeggens als standaardmethode wordt aanzien, met succes toegepast, doch ook in Groot-Brittanie (Horsfall), Nederland (Hartsuyker, Feekes) en Zwitserland (Blumer, Kundert).

Als schimmel werd getest : Stemphylium sarciniformae.

TABEL I

$CuSO_4$ 5 aq		$CuCl_2$ 2 aq		3 CuO . $CuCl_2$ xaq		$CuCO_3$. $Cu(OH)_2$		Cu-Oxalaat	
dpm Cu	% N.K.	dpm Cu	% N.K.	dpm Cu	% N.K.	dpm Cu	% N.K.	dpm Cu	% N.K.
0,5	3,72*	0,5	1,78	0,7	9,1	1,8	8,3	1,4	2,1
1	6,34	1,	3,25	1,4	8,4	3,5	31,3	2,7	10,9
1,5	11,37	1,5	6,13	2,8	24,2	6,9	70,3	5,3	17,6
2	22,53	2	9,96	5,5	44,4	13,7	96,8	10,5	30,9
2,5	64,96	2,5	13,79	11,0	63,3	27,3	99,5	21	21,4
3	97,90	2,75	29,49	22,0	91,7	54,5	100	42	14,1
3,5	100,00	3	76,63	44,0	90,6	109	—	84	29,4
4	100,00	3,5	98,64	—	—	—	—	—	—
6	100,00	—	—	—	—	—	—	—	—

(*) Elk cijfer is het gemiddelde van 2 testen op verschillende data. Bij elke test werden 4 × 100 sporen geteld in 4 druppels van het mengsel : sporensuspensie + stimulans + fungicide, op de draagglaasjes.
Uiteindelijke sporenconcentratie : 50.000/ml.

C. Resultaten en Besprekingen

Tabel I geeft voor de verschillende koperprodukten de niet-kiemingspercenten weer.

Uit de resultaten is reeds duidelijk af te leiden, dat er een degelijk verschil bestaat tussen de oplosbare en onoplosbare koperverbindingen :

1. Voor de oplosbare ligt de toxiciteit tussen enge grenzen. Een geringe stijging van de Cu^{++}-ionen-concentratie, geeft een sterke verhoging der sterfte.
2. Voor de onoplosbare produkten is het gebied sterker uitgebreid; de concentratie uitgedrukt in Cu hoeft hoger te zijn t.o.v. de oplosbare Cu-produkten.

De bekomen cijfers werden statistisch verwerkt (9, 10, 11, 12) om uit de werkelijke regressielijn de L.D. 50 af te leiden, voor de verschillende geteste produkten :

$$y = f(\log \lambda)$$

waarin λ : dosis.
y : probit.

De regressielijn karakteriseert de fungicide werking op 2 manieren :

1. De helling van de rechte (regressiecoëfficiënt) welke een maat is van de inhaerente toxiciteit.
2. De plaats van de rechte (L.D.50) welke een maat is voor de beschikbaarheid van de stof welke de fungicide aktie voorroept.

Tabel II geeft voor de verschillende produkten de L.D.50 en de richtingscoëfficiënt van de probit-regressielijn weer (grafisch voorgesteld in grafieken 1, 2 en 3).

TABEL II

Produkt	L.D.50 in dpm Cu	Richtingscoëfficiënt
1. Kopersulfaat	2,29	24,2
2. Koperchloride	2,83	14,5
3. Basisch Kopercarbonaat	4,74	3,5
4. Koperoxychloride	6,63	1,9
5. Koperoxalaat	niet te bereiken	0,2

Uit de grafieken treedt duidelijk naar voor dat voor geen enkel produkt de resultaten kunnen worden aangepast aan één enkele rechte. Afwijkingen treden op, hetzij in de lagere probit-waarden

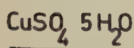


Fig. 1

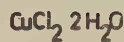


Fig. 2

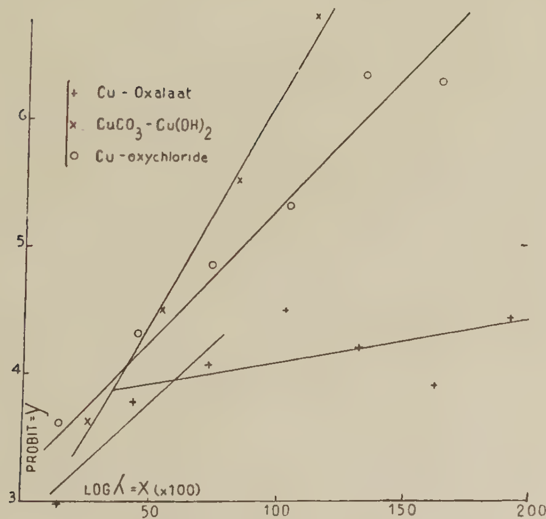


Fig. 3

(beneden 4) hetzij in de hogere (boven 6); daardoor dienden de resultaten gesplitst te worden in 2 rechten zoals reeds aangegeven door Bliss (11) en anderen. Dit bevestigt tevens de waarnemingen van McCallan, Wellman en Wilcoxon (4) in hun uitgebreid onderzoek omtrent de types van kurven die kunnen voorkomen. Ze bekwamen nl. volgende resultaten :

$CuSO_4$: concaaf naar boven.

Koperoxychloride : rechte.

Bordeaux-mengsel : concaaf of rechte.

1. Toxiciteit van de Cu^{++}-ionen

In de aangewende verdunningen van $CuSO_4$ en $CuCl_2$ (0,5 à 6 dpm Cu^{++}) mogen we aannemen dat praktisch de dissociatie dezer zouten volledig is.

McCallan (7) in proeven met $CuSO_4$ op sporen van Sclerotinia fructicola vermeld een L.D.50 gelegen tussen 0,25 en 1 dpm Cu^{++}, evenwel zonder gebruik van een stimulans voor de kieming. Later kwam hij, samen met Wilcoxon (3), tot een L.D.90 = 3 dpm Cu^{++}, waarbij sinaasappelsap als stimulans werd toegevoegd.

Goldsworthy en Green (1938) volgens een andere kiemmethode bevestigden de aanvankelijke resultaten van Mc Callan (8).

Conidiën van Sclerotinia fructicola en Glomerella cingulata op wateragar werden aan een voortdurende stroom van een $CuSO_4$-oplossing gedurende 24 u onderworpen. Daarna werd ingeënt op een voedingsbodem. Een oplossing van 0,25 dpm Cu^{++}-ionen kon de kieming van de meeste sporen verhinderen.

Ch'Wan-Kwang-Lin (8) geeft een 10 maal kleinere waarde aan voor de L.D.90 der Cu^{++} tegenover dezelfde schimmel (0,1 dpm) waarbij dextrose als stimulans voor de kieming wordt gebruikt. Lichte verschillen in gevoeligheid bestaan tussen sporen bekomen enerzijds door wassen en centrifugeren en anderzijds door rechtstreeks opzuigen van de cultuurbodem.

Martin, Wain en Wilkinson (13) insgelijks met $CuSO_4$ en schimmel Macrosporium sarciniforme vonden een L.D.50 = 2,7 dpm. Cu^{++}. Blumer en Kundert (14) bekomen voor Sclerotinia fructigena een L.D.50 = 1,6 à 2,1 dpm Cu^{++} en voor Alternaria tenuis 0,3 à 0,6 dpm, waarbij echter in plaats van $CuSO_4$, standaard-Bordeaux-mengsel wordt gebruikt. De L.D.50 door dezelfde auteurs bepaald langs de sproeimethode ligt nagenoeg 125 à 150 maal hoger.

Gezien het groot onderscheid naargelang de toegepaste methode, is het klaar dat L.D.50-waarden voor een reeks produkten enkel dan zin hebben wanneer ze bepaald worden op dezelfde schimmel en volgens dezelfde techniek.

Uit het overzicht van de L.D.50-waarden blijkt dat de 2 oplosbare koperprodukten nagenoeg even effectief zijn, hetgeen een aanwijzing is, dat het wel degelijk de Cu^{++}-ionen zijn die de fungicide aktie voorroepen.

De vraag rijst : hoe werken de Cu^{++}-ionen?

De schimmelsporen (conidiën) zijn over het algemeen ééncellig en hun metabolisme kan dus in overeenstemming gebracht worden met dit van andere ééncellige organismen, bij voorbeeld de microben.

De dodende werking van een toxicum op een microorganisme (bacterie of schimmelspore) kan door interactie met een of ander levensmechanisme van de cel tot uiting komen.

Als noodzakelijke levensmechanismen stippen we in het kort aan :

1. Het membraanmechanisme,
2. Het enzymenmechanisme,
4. Het vermenigvuldigingsmechanisme (gelegen in het kerngedeelte).
4. Het proteinecomplex van het cytoplasma.

De schimmelsporen nu hebben een negatief geladen gehydrateerde wand. Vandaar dat koperionen, door hun positieve lading gemakkelijk aan het celoppervlak geadsorbeerd worden. Vooraleer in het inwendig cytoplasma te kunnen doordringen worden de koperionen eerst aan de celwand geadsorbeerd.

Goldsworthy en Green (8) konden het koper aantonen in het protoplasma van de sporen, nadat deze een bepaalde tijd in contact gebracht waren met een Cu^{++}-oplossing ,,The copper is firmly fixed, once it is absorbed by living cells''.

Wanneer de toxische werking van een bepaald toxicum (in dit geval de Cu^{++}-ionen) kan opgeheven worden door een antidotisch effect van electrolyten (waarbij de valentie, de pH en de concentratie van deze electrolyten een rol spelen), zoals vastgesteld door Ch'Wan-Kwang-Lin (8), is het hoogst waarschijnlijk dat deze Cu^{++}-ionen slechts gebonden waren aan de celwand en nog niet in het cytoplasma waren doorgedrongen. De opvallende analogie vastgesteld door Ch'Wan-Kwang-Lin tussen het antidotisch effekt van bepaalde electrolyten op de kopertoxiciteit enerzijds en het peptiserend effekt van die electrolyten op eiwitten anderzijds is nog geen bewijs dat de koperionen bepaalde celkolloiden zouden neerslaan en aldus het afsterven van de cel voorroepen. Integendeel, het feit dat die bepaalde electrolyten in staat zijn sporen tot kieming te brengen, welke voorafgaandelijk door contact met Cu^{++}-ionen in hun kieming verhinderd werden, contact hetwelk niet te lang mocht duren, is een aanduiding dat hoogstwaarschijnlijk de celkolloïden nog niet neergeslagen zijn en dus de koperionen nog niet binnen-

gedrongen zijn in het protoplasma. Veeleer gebeurt hier een verdringing van de Cu^{++}-ionen, geadsorbeerd aan de celwand door het bepaald electrolyt.

Het is best mogelijk dat de Cu^{++}-ionen door aanhechting aan een ferment of door hun substituerende werking op fermenten, waardoor zij de plaats van de prosthetische groep innemen, een blokkering kunnen verwekken in het fermentensysteem aan de celmembraan.

Men mag dus aannemen dat de Cu^{++}-ionen, vooraleer in reactie te treden met de celconstituenten, bepaalde reacties voorroepen met de membraancomponenten en mogelijks met de membraanfermenten.

2. Toxiciteit der kolloïdale en gesuspendeerde koperprodukten

In de filtraten van de 3 suspensies (nl. Cu-oxychloride, Cu-oxalaat, basisch Cu-carbonaat) was geen oplosbaar Cu aantoonbaar met $K_4Fe(CN)_6$. Dit betekent dat wanneer er oplosbaar koper voorkomt dit zeker beneden 10 dpm ligt (gevoeligheidsgrens van de $K_4Fe(CN)_6$-test op Cu^{++}).

Onmiddellijk valt het groot onderscheid op tussen het $CuCO_3$ $Cu(OH)_2$ en 3 $CuO \cdot CuCl_2$ enerzijds en het Cu-oxalaat anderzijds.

Het feit dat deze drie onoplosbare koperverbindingen een hoger L.D.50 vertonen, uitgedrukt in Cu, dan het $CuSO_4$ en het $CuCl_2$, toont duidelijk aan dat indien er oplosbaar Cu voorkomt ten gevolge van een mogelijke zeer geringe oplosbaarheid van die produkten, deze hoeveelheid alleszins lager zal liggen dan de L.D.50 vastgesteld voor de Cu^{++}-ionen t.o.v. Stemphylium sarciniformae (2,29 dpm voor $CuSO_4$, 2,83 dpm voor $CuCl_2$).

Immers, zo de oplosbaarheid hoger is, dan bestaat er geen enkele reden waarom de gevonden L.D.50-waarde van de drie onoplosbare koperprodukten hoger ligt dan de L.D.50 van de Cu^{++}-ionen.

Er moet dus noodzakelijk een mechanisme bestaan dat Cu^{++}-ionen in oplossing brengt. Twee mogelijkheden staan hiervoor open : het zogenaamd cumulatief effekt, ofwel de oplossende werking van bepaalde sporenexcreties.

Het eerste effekt veronderstelt dat sporen koperionen voorkomen in de oplossing welke door de conidienwand worden geadsorbeerd.

Daardoor wordt echter het evenwicht onopgelost deel $\rightleftarrows$ opgelost deel verbroken, hetgeen voor gevolg heeft dat, om dit evenwicht terug te herstellen de reactie naar rechts doorgaat en nieuwe Cu^{++}-ionen in oplossing komen welke terug worden geadsorbeerd, dit tot de toxische concentratie voor de conidie bereikt is.

Het grote onderscheid tussen het basisch chloride en het basisch carbonaat aan de ene kant, en het oxalaat aan de andere kant, zou aldus te wijten zijn aan een absolute afwezigheid van

sporen Cu^{++}-ionen in de suspensie van het koper-oxalaat, tegenover een uiterst geringe oplosbaarheid van de twee andere produkten. Marsh (15) vermeldt voor het koperoxalaat „No fungicidal properties have been claimed for this compound".

Neemt men aan dat het de sporenexcreties zijn welke koperionen in oplossing brengen tot de sporen hun toxische concentraties bereikt hebben, dan is de geringe genestatische werking van het koperoxalaat uit te leggen, door zijn onoplosbaarheid in deze excreties. Dat sporenexcreties in staat zijn uit onoplosbare koperprodukten Cu^{++}-ionen in oplossing te brengen werd bewezen door McCallan en Wilcoxon (16) en later door Wain (17) en Wilkinson (18).

Volgens deze laatste auteurs zou het in oplossing brengen geschieden door complexvorming. Deze complexen kunnen dissocieren en naarmate, door de conidie, de koperionen in evenwicht met het complex, worden geadsorbeerd zullen stelselmatig meer koperionen uit het complex in oplossing komen.

De natuur van de sporenexcretie zal bepalend zijn voor de al of niet fungicide werking van een bepaald koperprodukt.

De bekomen resultaten tonen duidelijk het belang aan van de laboratorium-test van fungiciden, niet alleen uit zuiver wetenschappelijk oogpunt maar tevens als voorafgaande proef op het veldonderzoek ten einde een keuze toe te laten in de verder te testen produkten.

Het steeds groeiend aantal nieuwe produkten dat op de markt verschijnt vereist een nauwgezette controle welke enkel aan de hand van een degelijke laboratoriumtest-methode kan worden doorgevoerd.

RESUME

Etude Comparative de l'Action Fongicidale préventive de quelques Produits à base de Cuivre

L'étude comporte : l'évaluation et la comparaison, dans leur action fongicide préventive, de différents produits à base de cuivre. L'essai a été effectué au laboratoire en suivant le pouvoir généstatique des produits sur les conidies de Stemphylium sarciniformae.

Nous constatons une différence bien nette entre les produits solubles ($CuSO_4$ 5 aq, $CuCl_2$ 2 aq) et les produits mis en suspension (3 CuO $CuCl_2$, $CuCO_3$ $Cu(OH)_2$, oxalate de cuivre) et même dans ce dernier groupe l'effet est différent. Cet effet est du probablement à la différence en degré de solubilité (peut-être dans les exsudations des conidies).

SUMMARY

Comparative study about the preventive fungicidal action of some copper products

A study was made on the evaluation and on the comparison of several copper products in their fungicidal properties. The experiments were done in the laboratory by studying the genestatic effect on the spores of Stemphylium sarciniformae.

A striking difference is obtained between the soluble products ($CuSO_4$ 5 aq, $CuCl_2$ 2 aq) and the suspensions (3 CuO $CuCl_2$, $CuCO_3Cu(OH)_2$, Cu-oxalate), and even among the last group.

This effect probably results from a difference in solubility (possibly in the spore exudates).

LITERATUUR

1. American Phytopathological Society Committee on Standardization of Fungicidal Tests. ,,The slide germination-method of evaluating protectant fungicides''. *Phytopathology* **33**, 1943, 627-632.
2. ,,Test tube dilution technique for use with the slide-germination method of evaluating protectant fungicides. Ibid. **37**, 1947, 354-356.
3. McCALLAN. — ,,An analysis of factors causing variation in spore-germination tests of fungicides. I. Method of obtaining spores.'' Contributions Boyce Thompson Institute 1939, 11.309.
4. McCALLAN. — III. ,,Slope of toxicity curves, replicate tests, and fungi.'' Ibid. 1941, 12, 49-78.
5. McCALLAN. — IV. ,,Time and Temperature.'' Ibid. 1942, 12, 431-450.
6. McCALLAN. — ,,Characteristic curve for the action of copper sulfate on the germination of spores of Sclerotinia fructicola and Alternaria oleracea.'' Ibid. 1948. 15.
7. WHETZEL and McCALLAN. — I. ,,Concepts and Terminology.'' McCALLAN II. ,,Testing protective fungicides in the laboratory''. McCALLAN. III ,,The solvent action of spore excretions and other agencies on protective copper fungicides.'' Cornell University Agricultural Experiment Station. Memoir 1928-1930.
8. CH'WAN-KWANG-LIN. — ,,Germination of the conidia of Sclerotinia fructicola, with special reference to the toxicity of copper.'' Ibid. Memoir 233-1940.
9. DIMOND, HORSFALL, HEUBERGER, STODDARD. — ,,Role of the dosage response curve in the evaluation of fungicides.'' *Connecticut Agricultural Experiment Station Bulletin*, 451-1941.
10. FINNEY. — ,,Probit Analysis''.
11. BLISS. — ,,Calculation of the dosage — mortality curve.'' *Annals of Applied Biology* 1935a, 22.134.
12. BLISS — ,,Comparison of dosage — mortality data.'' Ibid. 1935b 22, 307.
13. WAIN, R. L. — ,,Recent work on the copper fungicides.'' *Mededelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent.* Deel **XIII**, nr 1, 1948.
14. BLUMER S, KUNDERT J. — ,,Die Biologische Laborprufung von Kupferpräparaten.'' Landwirtschaftliches Jahrbuch der Schweiz. 6º Fascicule 1949.
15. MARSH. — ,,Some applications of Laboratory Biological Tests to the Evaluation of Fungicides.'' *Annals of Applied Biology* 1938, 25, 3, 583.
16. McCALLAN, WILCOXON. — Contrib. Boyce Th. Inst. 1936, 8, 151.
17. WAIN. — *Annals Applied Biol.* 1943, 30, 379.
18. WILKINSON. — *Annals Applied Biol.* 1946, 33, 401.

QUELQUES RESULTATS DES RECHERCHES SUR LA MALADIE A VIRUS NOMMEE STOLBUR DANS LA TCHECOSLOVAQUIE

par

Ctibor Blattný et Jaroslav Brčák

Institut de biologie de l'Académie tchécoslovaque des sciences
Section de Phytopathologie, Prague

La maladie à virus, largement étudiée pendant les dernières 10 années à l'Union soviétique, Bulgarie, Jougoslavie et Tchécoslovaquie et connue sous le nom ,,stolbur'', appartient au groupe des viroses du genre Chlorogenus (d'après la nomenclature de Holmes). Kovachewsky (1954) propose le nom Chlorogenus australiensis v. stolbur. Comme nous avons déjà observé, p.e. Brčák (1954), Brčák, Blattny, Pozděna (1955), Blattny, Brčák, Limberk, Bojňanský (1956), on ne peut pas encore prononcer un jugement définitif sur les relations taxonomiques du stolbur aux viroses symptomatiquement similaires jusqu'indentiques, répandues dans le monde entier. Selon la littérature et nos recherches, nous considérons que la maladie de stolbur est provoqué par une seule espèce de virus, tout en admettant l'existence des diverses clones de ce virus. En Union soviétique, le stolbur a été décrit pour la première fois par Jačevskij (1914); plus tard, en 1934, Ryžkov et Koračevskij se sont clairement exprimés sur les qualités vireuses du stolbur, Koračevskij (1934) et d'autres ont examiné les changements biochimiques dans les plantes affectées. A peu près à la même époque, on trouve quelques mentions sur cette virose aussi dans la littérature tchécoslovaque (Baudyš 1933 et Vielwerth 1938).

En Australie, ce sont Samuel Bald et Eardley (1933) qui décrivent le ,,big bud'' (Lycopersicum virus 5 = Chlorogenus australiensis); celui-ci, à l'origine, fut identifié au stolbur. Ce n'est que Hill (1943) qui apporta des éclaircissements sur l'étiologie de la maladie big bud par la découverte du vecteur, Cicadine Orosius argentatus Evans, et plus tard, Suchov et Vovk (1946) sur l'étiologie du stolbur par leur découverte du vecteur Cicadine Hyalesthes obsoletus Sign. en 1945. Les résultats de leur travaux ultérieurs sont rassemblés dans une monographie (Suchov et Vovk,

1949). Cette publication représente le point de départ pour les études du stolbur en Tchécoslovaquie (Blattný 1952, Bojňanský-Blattný 1953, Valenta 1953, etc.).

En 1953, nous avons réussi (Brčák 1954) de transmettre le stolbur par Aphrodes bicinctus Schrk. dont la capacité vectorale pour la jaunisse d'asters, aster yellows d'Europe a été confirmée en Allemagne (Heinze et Kunze 1955). Quoique le phénomène d'un seul vecteur a été auparavant rejeté par d'autres auteurs (Samundževa 1951), cette découverte a ranimé l'étude des problèmes taxonomiques posés dans quelques travaux de Suchov et Vovk. A notre avis, il y a deux raisons essentielles pour le développement de l'étude de ces problèmes : 1. Il faut éclaircir l'écologie des maladies apparantées à notre stolbur et y intéresser des spécialistes, parce que ces maladies causent des lourdes pertes principalement dans les cultures de pommes de terre. 2. Ce travail aidera à éclaircir des opinions sur le classement systématique des virus du groupe Chlorogenus sur la base des point de vue naturels et surtout de la virogéographie qui met en valeur les aspects historiques et écologiques (Blattný, Brčák, Pozděna, Dlabola, Limberk, Bojňanský 1954). Quelques auteurs qui ne regardaient pas la nomenclature en virologie botanique comme une question de forme ont pu déjà résoudre avec succes les problèmes de ce genre. Les maladies ressemblantes à stolbur par leur symptomatologie, période d'incubation, l'étendue des plantes réceptives, vecteurs etc. existent dans le monde entier. P.e. ,,aster yellows'' chez Callistephus sinensis et surtout chez Solanum tuberosum (Severin 1940) rappelle notre stolbur, de même que la virose décrite aux Index chez Solanum melongena (Thomas et Krishnaswami 1939). Le ,,witches' broom'', une des maladies jusqu'ici peu connues, peut être à bon droit comparée à aster yellows. Le travail de Todd (1954) montre, que witches' broom est très proche au stolbur. Les viroses du type stolbur connues d'Amérique du Sud, Amérique du Nord (Costa 1949), Grandes Antilles, suggèrent l'idée qu'il peut s'agir des vicariantes, probablement d'une origine commune. Il est remarquable qu'ils existent des territoires affectés par les viroses différentes qui sont en corrélation avec les aréales ou se trouvent les vecteurs. Il n'est pas exclu que certains de ces territoires ont été créés que par l'homme, surtout par la cultivation des produits comme pommes de terre qui se multiplient végétativement sans transmetteur originaire naturel qui y manque. C'est pourquoi nous croyons que l'introduction de l'idée virogéographie est bien justifiée. L'anthropochorie cependant n'explique l'origine des formes vicariantes du stolbur de leur centre originaire, p.e. tantôt parce que nous ne connaissons pas l'histoire de la variabilité du virus de stolbur et sa faculté adaptive pour vecteurs et hôtes différents, tantôt parce qu'il s'agit d'après Valenta (1953)

d'une maladie de réservoir naturel au sens de Pavlovsky, c'est-à-dire d'une maladie qui existe dans la nature indépendante de plantes de culture dans les réservoirs et qui peut devenir sous certaines conditions la maladie des plantes de culture.

Du point de vue symptomatologique on pourrait mettre dans ce groupe d'autres viroses décrites surtout chez les pommes de terre en Amérique qui sont très proches du stolbur ou les viroses d'autres espèces végétales, p.e. „Rubus stunt" (de Fluiter, van der Meer 1953); une maladie semblable à celle-ci a été constatée par Bojňanský (inédit) en 1955 à Krasnodar (URSS). Pour une comparaison démonstrative d'espèce au virus il faut une sérieuse étude expérimentale comparée.

Dans la partie suivante de ce travail nous voulons exprimer nos idées sur quelques questions concernant stolbur et comparer la situation en Tchécoslovaquie avec les travaux accessibles, avant tout de Suchov et Vovk.

Sur la symptomatique et étendue des hôtes végétaux du virus de stolbur

A notre avis, les symptomes extérieures des plantes infectées de stolbur ne peuvent pas être divisés en changements de forme (réduction et chlorose diffuse des feuilles, leur torsion, anthocyanisation, lignosité et dressage des tiges, atrophie de la couronne, hypertrophie et assymetrie du calice, rabougrité générale etc.) et en changements physiologiques (les pommes de terre qui fanent). Les expériments ont prouvé qu'une jeune plante de pomme de terre atteinte de stolbur et cultivée sans menace d'une température trop élevée et du manque d'eau manifeste des caractères de forme qui sont du même ordre que les symptomes des autres espèces de plantes. Le faner de la pomme de terre se présente surtout comme conséquence de la sécheresse et chaleur comme un symptôme secondaire du stolbur. C'est pourquoi le faner en masse des pommes de terre a été observé jusqu'ici pendant les étés chauds et secs, où, en effet, l'infection de stolbur est plus répandue et la plante atteinte est apparente à première vue. La provocation des symptômes est ralentie dans le milieu humide et froid, la période d'incubation s'y prolonge.

On connait avec précision l'infection par le stolbur chez les plantes suivantes en Tchécoslovaquie : Solanum tuberosum, Lycopersicum esculentum, Nicotiana tabacum, N. rustica, N. sylvestris, N. glutinosa, Capsicum annuum, Apium graveolens, Convolvulus arvensis, Callistephus sinensis, Datura stramonium, Reseda lutea, Daucus carota, Solanum melongena, Pharbitis purpuraea — comp. Bojňanský-Blattný (1953), Blattný et coauct.

(1954), Valenta (1955, 1956). Les rapports cités contiennent aussi les informations sur d'autres espèces surtout de la famille Asteraceae et des autres familles chez lesquelles l'infection par le stolbur n'a pas été expérimentallement vérifiée : Cirsium arvense, Cichorium intybus, Taraxacum officinale, Carduus acanthoides, Lepidium draba etc. qui sont caractéristiques surtout par les virescences et proliférations. Chez la plupart des plantes, la ressemblance des symptômes avec les viroses mentionnées auparavant est très frappante. Chez Calystegia sepium et Convolvulus cantabricus nous n'avons pas observé des symptomes semblables.

La plante de réservoir la plus importante du stolbur est le liséron, Convolvulus arvensis, sur laquelle se développe le vecteur le plus important, Hyalesthes obsoletus. Le liseron infecté par le stolbur a la forme d'arbuste, les tiges dressés, les feuilles sont beaucoup plus petites, elle perdent leur forme de flèche, jaunissent, éventuellement anthocyanisent, la plante ne fleurit pas, rarement sont ses calices hypertrophiques. La forme décrite dans la littérature botanique sous le nom de pumilus Choisu est probablement une plante infectée par le stolbur. Le liseron atteint de stolbur a une mortalité plus grande que le liseron normal, et cela dans les conditions naturelles aussi bien que dans la serre.

Le rapport des réservoirs naturels du stolbur au vecteur H. obsoletus

D'après la littérature actuelle, le territoire, où se trouve H. obsoletus, occupe surtout la région méditerranéenne; il a été localisé le plus nord en Europe en Bohême septentrionale et vers l'est il dépasse le lac d'Aral. Chez nous, il se manifeste comme une espèce stenoëk, thermophile et xérophile, se trouvant que dans les régions les plus chaudes de la Tchécoslovaquie. Quant à la prognose pratique, nous sommes d'avis que l'existence de H. obsoletus de même que le stolbur peuvent être présumés dans les régions où prospère ou peut prospérer la vigne. Dans ces régions, c'est la présence du liseron infecté par le stolbur qui trahit, d'habitude, la présence du H. obsoletus.

Les images de H. obsoletus prennent leur vol pendant le mois de juin; au commencement du juillet — d'après Suchov et Vovk (1949) — ils quittent le liseron pour envahir les cultures de Solanaceae. C'est la maine cause du développement rapide du stolbur sur les pommes de terre, tomates, poivres verts et tabac en été. Les pommes de terre sont particulièrement recherchées par cet insect. En Bulgarie, nous avons observé au juillet une apparition massive de H. obsoletus sur le tournesol. A cause des résultats obtenus avec notre culture artificielle de H. obsoletus

sur différentes espèces de plantes et à cause des constatations qui suivent, nous sommes d'avis que ce n'est pas la nécessité du changement de nourriture qui cause la migration, mais qu'il s'agit plutôt d'une recherche des conditions microclimatiques optimales, sans égard à la plante receptive. Le changement des conditions alimentaires sur le liseron peut aussi influencer la migration — quand le liseron sèche, les insects le quittent. Nous avons fondé notre explication de la migration de H. obsoletus sur les constatations suivantes :

1. Dès le début jusqu'à la fin de l'existence des images en été, une partie considérable de la population de H. obsoletus (mâles et femelles) restent chez nous sur leur plante nourricière originale, le liseron de champ. Au cours des étés différents et dans les régions différentes, les images de H. obsoletus se meuvent vers les cultures des plantes différentes. Voilà pourquoi la migration ne peut pas être considérée comme une nécessité biologique.

2. La migration d'été de H. obsoletus a été observée surtout dans les régions sèches et pendant les étés d'une humidité modeste, où le liseron sèche et devient une nourriture inconvenable. Dans les régions plus froides et pendant les étés plus humides, la plupart ou même la population entière de H. obsoletus restait sur le liseron qui ne séchait pas.

3. L'invasion de cette maladie sur les plantes de culture corresponde aux indications antérieures. Le stolbur est observé surtout pendant les années sèches et dans les régions chaudes. Dans les régions plus froides, où se trouvent p.e. les complexes plus importants pleins de liseron infecté par le stolbur qui peuvent être appellés réservoirs demi-naturels du stolbur, les cultures des plantes environantes sont souvent complètement épargnées de l'infection par le stolbur.

Pour évaluer l'importance épidémiologique des réservoirs du liseron infecté en Bohême, où le stolbur nuit assez rarement, nous avons planté les tomates sur les fonds couverts de liseron. Sur les deux lieux d'expériment, en 1955, 10% des tomates ont été attaquées par le stolbur et ce n'étaient que celles plantées jusqu'au juillet. Les tomates qui sont restées sur le lieu jusqu'à la fin du juin (et ensuite transportées à l'isolation) sont restées intactes. De cette manière, nous avons prouvé aussi la fonction primaire du H. obsoletus comme vecteur du stolbur.

Stolbur chez la pomme de terre

La pomme de terre est considérée par Suchov et Vovk comme une vraie plante nourricière de H. obsoletus. Cet opinion a été confirmée aussi par nos résultats (Brčák, Blattný, Pozděna 1955)

et par les travaux non-publiés du Bulgare (Arabadjieff qui a prouvé l'attraction des pommes de terre également pour les nymphes du H. obsoletus). Le stolbur a son importance pour les pommes de terre aussi du point de vue économique, quoique ce fait n'est pas encore généralement reconnu en Europe. La disposition à l'infection des variétés différentes des pommes de terre n'est pas toujours la même. En 1955, Bojňanský a constaté (Brčák, Bojňanský 1955) dans les conditions champêtres l'infection chez les variétés Erstling et Kitting en 16-17%, chez Kardinál et Reneta 6-8%, Bintje, Krasava, Borka 1-3%. D'habitude, les pommes de terre attaquées par le stolbur fanent au cours de l'année de cultivation, leurs bulbes sont petites, molles et forment ensuite des germes en fil. Nous n'avons pas eu la possibilité de vérifier le matériel étudié par des nombreux auteurs qui expliquaient le faner des pommes de terre et les germes en fil par une dégénération physiologique, par l'infection de Colletotrichum atramentarium (B. et Br.) et c'est pourquoi nous ne voulons pas continuer la discussion (Brčak et coll. 1955). Nous laissons à part aussi la question de ce qu'on appelle le stolbur du nord et le stolbur du sud des pommes de terre, posée par Suchov et Vovk (1950). Nous voulons seulement remarquer, comme on a déjà dit, que nous ne considérons pas comme justifiée la différentation du stolbur du nord et stolbur du sud, fondée sur les observations que le stolbur du sud cause ce faner et le stolbur du nord ne le cause pas, que le stolbur du sud est transmis par les bulbes qu'exceptionellement et le stolbur du nord régulièrement, que chez le stolbur du nord il se produit de la virescence des fleurs, ce qui n'est pas le cas chez le stolbur du sud. En 1955 (Blattný, Brčák, Limberk, Bojňanský 1956), nous avons obtenu les arbustes non fanant des bulbes en fil (mais des plantes non fanant) apportées de la Moravie du Sud, région typique du stolbur du sud fanant des pommes de terre (les expériments faits à Prague); cependant ces arbustes montraient les symptômes de forme et de couleur du stolbur. Ensuite, nous avons transmis le stolbur à l'aide de la greffe de ces plantes sur les tomates. De cette manière nous avons prouvé la transmission du stolbur par les bulbes chez 3,17% (jusqu'à 16%) des bulbes (de 21 variétés). Ce pourcentage ne doit pas être sousestimé dans la pratique. Nos expériments ont confirmé la constatation de Ducomet (1928) sur la transmission latente de filosité des pommes de terre, sous-estimée par Wenzel et Demel (1952).

Les méthodes du combat de stolbur

Les travaux révélatrices de Suchov et Vovk (1946, 1949, 1950) et leur collaborateurs nous informent sur les différentes façons à combattre cette virose, surtout dans les cultures de champ.

Pour combattre les transmetteurs de cette infection on peut appliquer les arrosages de DDT et HCH quelquefois répétées au temps de vol des images de H. obsoletus. Par la combinaison du HCH introduit dans la terre et des arrosages par une émulsion de DDT, nous avons réussi de réduir l'infection par le stolbur chez les tomates jusque de 68%. Chez le tabac, où l'usage des insecticides HCH et DDT est problématique, et chez les tomates l'arrosage triple (1., 16., et 30. VII) a donné des résultats plus faibles.

Il y a plusieurs projets de protection des plantes contre cette maladie dont nous allons citer : les barrières des plantes plus hautes séparant les plantations et empêchant l'attaque de H. obsoletus; puis, une densité accrue de la culture, l'irrigation abondante et l'ombrage. L'amélioration afin d'accroître la résistance — celle-ci n'étant pas toujours d'accord avec les exigences des consommateurs et cultivateurs — est restée jusqu'ici sans succès manifeste.

La méthode préventive consiste avant tout à liquider les plantes de réservoir (liseron de champ) dans les champs et surtout dans les terres non-labourées. C'est une méthode dont on peut beaucoup espérer mais qui exige une attention particulière de la part des cultivateurs et des autorités. L'extermination du liseron doit être exécutée au moins un an avant la culture.

Pour terminer, nous voulons souligner quelques moyens du combat contre le stolbur des pommes de terre qui sont moins exigents mais bien efficaces : 1. Pour la plantation, il faut se procurer les plants de pommes de terre des régions intactes; il faut planter très tôt au printemps les bulbes prégermées dont les bulbes en fil ont été enlevées. 2. Dans les pays chauds, où il y a du stolbur, il faut se servir des variétés très précoces qui, phaenologiquement, èchappent à l'infection.

Discussion et conclusion

Stolbur est — certainement — répandu dans toute la Méditerranée d'où il se propage loin au nord au delà 50^{e} parallèle. Cependant le caractère écologique de la maladie peut bien varier. Ceci concerne surtout les variétés des plantes réceptives, l'écologie de H. obsoletus et des autres transmetteurs et les réservoirs naturels. C'est ainsi qu'en Slovaquie le tabac est plus attaqué par le stolbur qu'en Bulgarie. L'influence des réservoirs de liseron diffère en Bohémie et en Slovaquie, ce qui est en rapport avec le climat qui influence la plante nourricière et le nombre, la faculté migrative et la fénologie du vecteur. De ce point de vue nous expliquons également les différences des résultats de l'application

des insecticides contre H. obsoletus, laquelle doit être élaborée spécialement pour les différentes régions.

Il est nécessaire de revoir l'étiologie de la filosité des germes de pommes de terre en égard au stolbur pour faciliter ainsi le combat contre les grandes pertes dans les cultures des pommes de terre. En vue de la longue période d'incubation du stolbur chez les différentes plantes, prolongée par le froid et le manque de lumière, il est nécessaire de vérifier la possibilité de l'infection latente surtout chez les pommes de terre.

LITTERATURE

1. BAUDYŠ, E. — 1933. Fytopathologické poznámky VIII. *Ochrana rostlin* **13**, (3-4), 90-102.
2. BLATTNÝ, C. — 1952. Bezsemennost čili stolbur — nebezpečná virosa tabáku. *Prumysl potravin* **3**, (12), 537-542.
3. BLATTNÝ, C., BRČÁK, J., POZDĚNA, J., DLABOLA, J., LIMBERK, J., BOJŇANSKÝ, V. — 1954. Die Uebertragung des Stolburvirus bei Tabak und Tomaten und seine virogeographischen Beziehungen. *Phytopath. Zeitschrift* **22**, (4), 381-416.
4. BLATTNÝ, C., BRČÁK, J., LIMBERK, J., BOJŇANSKÝ, V. — 1956. Príspěvek k epidemiologii stolburu v ČSR se zvláštnim zřetelem na brambory. *Československá biologie* **5**, (2), 95-104.
5. BOJŇANSKÝ, V., BLATTNÝ, C. — 1953. Virové žl'těnky a bezsemennosti vo svetle sovietskych a našich vyskumov. *Biologia* 1953, (6), 538-560.
6. BRČÁK, J. — 1954. Nový přenaseč stolburu (bezsemennosti) rajčete a tabáku — krísek Aphrodes bicinctus Schrk. *Zoolog. a entomol. listy* **3**, (4), 231-237.
7. BRČÁK, J., BLATTNÝ, C., POZDĚNA, J. — 1955. Další příspěvek k poznání stolburu v ČSR. *Polnohospodárstvo* **2**, (5), 433-447.
8. BRČAK, J., BOJŇANSKÝ, V. — 1955. Vyhledy boje proti virovému stolburu plodin, zejména brambor. *Za vysokou úrodu* 1955, (1), 23-24.
9. COSTA, A. S. — 1949. Duas novas moléstia de vírus do tomateiro em São Paulo. *O Biologico* **15**, 79-81.
10. DE FLUITER, H. J., VAN DER MEER, F. A. — 1953. Rubus stunt a leafhopper-borne virusdisease. *Tijdschrift over Plantenziekten* **59**, 195-197.
11. DUCOMET, V. — 1928. La filosité de la pomme de terre, maladie à crises. *Rev. de path. vég. et d'ent. agric.* **15**, (7), 184-185.
12. HEINZE, K., KUNZE, L. — 1955. Die europäische Asterngelbsucht und ihre Uebertragung durch Zwergzikaden. *Nachrichtenbl. des Deutsch. Pflanzenschutzd.* **7**, (10), 161-164.
13. HILL, A. V. — 1943. Insect transmission and host plants of virescence (big bud of tomato). *J. Counc. Sci. Industr. Res. Austr.* **16**, (2), 85-90.
14. KORAČEVSKIJ, I. K. — 1943. Biochimičeskoe issledovanie stolburnogo zabolevanija tomatov. Sb. Virusn. bolenz. v Krymu i na Ukraine, Simferopol.
15. KOVACHEWSKY, Iv. Ch. — 1954. Die Stolburkrankheit der Solanaceen. *Nachrichtenbl. für d. Deutsch. Pflanzenschutzd.* 1954, (9), 161-166.
16. RYŽKOV, V. L., KORAČEVSKIJ, I. K. — 1934. Virusnye bolezni pomidora v opytach po iskusstvennomu zaraženiju. Sb. virusn. bolezni rast. v Krymu i na Ukraine. Simferopol.
17. SAMUEL, G., BALD, J. G., EARDLEY, C. M. — 1933. „Big bud" a virus disease of the tomato. *Phytopathology* **23**, 641.

18. SEVERIN, H. H. P. — 1940. Potato naturally infected with California aster yellows. *Phytopathology* **30**, (12), 1049-1051.
19. SAMUNDŽEVA, E. M. — 1951. K izučeniju otlačitelnych osobennoste j pere-nosčikov stolbura v Gruzii. *Soobč s. AN Gruzinskoj SSR* **12**, (6).
20. SUCHOV, K. S., VOVK, A. M. — 1946. Cikadka Hyalesthes obsoletus Sign., perenosčik stolbura paslenovych. *Dokl. Ak. Nauk SSSR* **53**, (2), 153-156.
21. SUCHOV, K. S., VOVK, A. M. — 1949. Stolbur paslenovych. *Izd. AN SSSR*, Moskva.
22. SUCHOV, K. S., VOVK, A. M. — 1950. Differencialnye različija meždu severnym i južnym stolburom kartofelja. *Trudy Inst. Gen. AN SSSR* **17**, 236-238.
23. THOMAS, K. M., KRISHNASWAMI, C. S. — 1939. Little leaf a transmissible disease of brinjal. *Proc. Ind. Ac. Sci.* **10**, (2), 201.
24. TODD, J. M. — 1954. Potato wildings and witches'broom in Scotland. *Plant Pathology* **3**, (1), 17-20.
25. VALENTA, V. — 1953. Poznámky k bionomii, vývoju a hospodárskemu vyznamu žilnatky vírusonosnej (Hyalesthes obsoletus Sign.) v Československu. *Zool. a ent. listy* **2**, (4), 267-282.
26. VALENTA, V. — 1955. O stolbure II. Experimentálna diagnostika choroby. *Práce II. sekcie SAV, ser. biol.*, **1** (8), 22 pp.
27. VALENTA, V. — 1956. O stolbure IV. Doplňky k okruhu hostitelov vírusu. *Československá biologie* **5**, (in litt.).
28. WENZEL, H., DEMEL, J. — 1952. Untersuchungen uber den Pflanzengutwert fadenkeimiger Kartoffelknollen. *Die Bodenkultur* **6**, (1), 41-54.
29. VIELWERTH, V. — 1938. Zpráva o škodlivých činitelích kulturních rostlin v oblasti západního a středního Slovenska. *Ochrana rostlin* **14**, (55), 8-16.

Supplément

Pendant mon séjour en Belgique, j'ai trouvé le 10 mai 1956 à Liège—rue St Laurent, pente sous le Jardin Jules Letour — de plantes du liseron — Convolvulus arvensis — gravement malades, attaquées par stolbur. La manifestation de cette maladie était évidente. Cette trouvaille est naturelle et capable : ce territoire n'est pas loin de la région vinifère, ou se trouve stolbur certainement plus souvent. C'est en même temps le point extrème du nord-ouest du stolbur dans l'Europe.

On trouve le stolbur aussi dans les régions, où ne vit pas le vecteur Hyalesthes obsoletus / Bojňansky et Králiková, Polnohospodárstvo, II, 1955/. De la on peut juger qu'il existe aussi une autre species de Cicadines comme vecteur de stolbur.

H. J. de Fluiter, Wageningen

V : Welche Symptome entwickeln stolburkranke Convulvulus arvensis-Pflanzen?

A : Die Symptome bei stolburkranken Ackerwindenpflanzen, Convolvulus arvensis, können sehr verschiedenartig sein, einzelne davon können entweder selbständig oder in Kombinationen auftreten. Wuchs : niedrig, aufrecht, meistens die Fähigkeit zum Winden verloren. Die Pflanzen blühen nicht, wenn sie blühen, sind die Blütenkronen verkümmert, die Kelche hypertrophiert. Die Blätter sind öfter kürzer, mehr eiförmig, oft beulig, ihre Farbe gelblich bis dunkelgrün, oft anthokyanisiert. Die kranken Pflanzen trocknen oft vorzeitig ein. Hohe Mortalität in den Wintermonaten, abnorm hohe Mortalität in „Gefangenschaft", Glashaus.

Mlle Sommereyns, Gembloux

V : Méthode d'élevage de *Aphrodes bicinctus*.

A : On peut facilement élever *Aphrodes bicinctus* dans les cages, de nylon ou silon, en plein champ ou dans la serre.

J. C. Mooi, Wageningen

V : Was meint der Sprecher von der Colletotrichum-Welke im Zusammenhang

mit Stolbur, da russische (bulgarische) Forscher meinen, dass diese Colletotrichum-Welke durch Stolbur verursacht wird.

A : Die russischen und bulgarischen Forscher sind nicht der Ansicht, dass die Welke durch Colletotrichum verursacht wird, sondern im Gegenteil, dass primär das Stolburvirus wirkt und das Colletotrichum nur als sekundärer, begleitender Faktor mitwirkt. Typische Welke haben wir oft konstatiert auch ohne Colletotrichum-Anwesenheit; dagegen erwiesen sich die welkenden Pflanzen stets als stolburkranke Pflanzen. Das Welken braucht jedoch nicht stets die Stolburerkrankung begleiten, es stellt sich nur ein bei trockener und heisser, sonniger Witterung und dies auch noch nicht in allen Fällen. Ich möchte dadurch sagen, dass die Kartoffelpflanzen auch damals mit Stolbur erkrankt sein können, wenn Sie keine Welke-Erscheinungen aufweisen.

Mlle Sommeryns, Gembloux

V : S'il y a eu en Tchécoslovaquie du ,,Purple top'' sur la pomme de terre et quel en serait le vecteur.

A : Nous n'appliquons pas la dénomination ,,purple top'' en Tchécoslovaquie, mais nous savons, que le stolbur a comme un de ses symptomes souvent le ,,purple top''. Le vecteur principal du stolbur en Tchécoslovaquie est *Hyalesthes obsoletus*, dans les essais aussi *Aphrodes bicintus*, certainement aussi des autres espèces, jusqu'aujourd'hui inconnues, nous avons trouvé le stolbur aussi dans les régions ou n'existe ni *Hyalesthes obsoletus* ni *Aphrodes bicinctus*.

Mlle Sommereyns, Gembloux

V : *Aphrodes bicinctus* est-il sur Convolvulus arvensis en Tchécoslovaquie?

A : Aphrodes bicinctus est un insecte polyphage, il vit en Tchécoslovaquie sur le liseron et sur un grand nombre d'autres plantes. C'est un insect commun en Tchécoslovaquie, sauf les montagnes.

H. Blunck, Bonn

V : An welchen Wildpflanzen überwintert der Ueberträger von Stolbur am häufigsten?

A : Am häufigsten überwintert der Ueberträger von Stolbur, *Hyalesthes obsoletus*, an der Ackerwinde, an ihrem Wurzelteil. Ausser Ackerwinde (Convolvulus arvensis) geschieht die Ueberwinterung — jedoch viel seltener — auch an Lepidium draba, wachrscheinlich auch an Cirsium arvense und anderen Compositen, möglicherweise auch an anderen Pflanzenarten.

Mlle Sommereyns, Gembloux

V : Quelle est la relation entre stolbur et purple top?

A : Le ,,purple-top'' d'Amérique est ou identique ou très voisin avec le stolbur. Un des symptômes du stolbur est souvent l'anthokyanisation des feuilles du sommet.

HET NATRIUMZOUT VAN 2,2-DICHLOORPROPIONZUUR ALS HERBICIDE VOOR ENKELE GEWASSEN

door

J. Stryckers

Inleiding

Het natriumzout van ,,dalapon'' of D.P.A. (*), 2,2-dichloorpropionzuur ($CH_3.CCl_2.COOH$), dat chemisch nauw verwant is met het T.C.A. (trichloorazijnzuur—$CCl_3.COOH$), bezit nochtans het grote voordeel dat de plant dit middel niet enkel via de bodem absorbeert maar het, in tegenstelling met TCA, daarenboven ook langs het blad opneemt, waarna het naar de groeipunten wordt getransporteerd (3).

Bij een normale gift beginnen de spruiten te vergelen (chlorosis) en sterven verder traagjes af. Lage hoeveelheden kunnen groeistofachtige afwijkingen veroorzaken. Soms is er ook een kontaktwerking waar te nemen, vnl. bij warmer weer. Na toediening van hogere doses wordt, bij voldoende warmte, de necrostische werking zeer vlug zichtbaar aan de bladeren. Een te snelle werking is echter, net als voor de groeistoffen van de groep van de phenoxy alkyl carbonzuren, ongewenst want indien het weefsel te snel gedood wordt kan er geen systemische translokatie meer plaats hebben. Een te snelle doding van de bovengrondse delen is m.a.w. nadelig omdat het geleidweefsel intakt moet blijven om het middel o.m. naar de ondergrondse plantendelen te vervoeren.

Het DPA werd in 1953-54 aangekondigd als een nieuw middel dat de rij van de grasherbiciden, z.a. IPC, CICP, CMU en TCA, kwam aanvullen (2, 3, 7). Het blijkt echter o.m. ook toxisch te zijn voor nog andere rhizomenvormers dan alleen deze welke tot de gramineeën behoren en bezit derhalve een ruimere herbicide werking.

(*) Aanvankelijk werd dit herbicide als ,,D.C.P.'' afgekort doch hierdoor ontstond verwarring met het *d*i*c*hloor*p*henol. ,,D.P.A.'' is afgeleid van ,,*d*ichloro*p*ropionic *a*cid''.

Bestrijding van Polygonum amphibium L., veenwortel

Weinig teelten verdragen een rechtstreekse bespuiting met DPA over het gewas, zeker niet met hogere doses. *Polygonum amphibium L.*, welke overvloedig diepgaande rhizomen vormt, kan derhalve slechts behandeld worden met DPA wanneer de akker vrij is, nl. tijdens het dode seizoen. Op dat ogenblik kan men niet steunen op de gunstige werking ingevolge de bladopname. Niettegenstaande deze handicap bezit het DPA toch nog een heviger werking als wortelherbicide dan TCA. Dit blijkt in Tabel 1 uit :

- de bezetting met bovengrondse spruiten van veenwortel tijdens het groeiseizoen;
- het gewicht rhizomen van veenwortel op het einde van het groeiseizoen;
- de onderdrukking van andere onkruiden, waardoor de ruimere herbicidewerking tot uiting komt.

TABEL 1

Bestrijding van Polygonum amphibium L., veenwortel

Control of Polygonum amphibium L., amphibious knotgrass

Behandeling *Treatment* kg/ha		*Pylygonum amphibium* L.				Bezetting met andere onkruiden* *Other weeds*	
		Bovengrondse spruiten *Sprouting* 0 = geen veenwortel *no sprouts* 10 = dichtst bezette perc. *plot with most sprouts*			Rhizomen : relatief gewicht *Rhizomes rel. weight*		
24/1/55	2/3/55	31/5/55	10/6/55	6/9/55	1/10/55	31/5/55	10/6/55
1. **T.C.A. Na**							
20	—	7	7	5	59,4	8	5½
40	—	5½	3	5	72,1	10	4¾
—	20	6	5¼	5½	79,3	7	4
20	20	5	4½	4½	69,5	6	3¼
2. **D.P.A. Na**							
20	—	2½	3¼	2	48,6	6	5¼
40	—	2	2	1	37,4	3	3¼
—	20	2½	3¼	2	54,1	1	4
20	20	1	1	½	51,9	½	3
3. **Kontroles** (6)		10	9½	8	100±16,5**	8½	6¼

(*) 0 = geen onkruiden; 10 = dichtst bezette perceel met *Spergula arvensis L., Chenopodium album L.*, en *Galinsoga quadriradiata Ruiz. et Pav.*
(**) 100 = 1.738 kg A.D.S. per ha en tot op 0,6 m diepte.

Figuren 1 en 2 illustreren duidelijk het terugdringen van veenwortel door het DPA natrium.

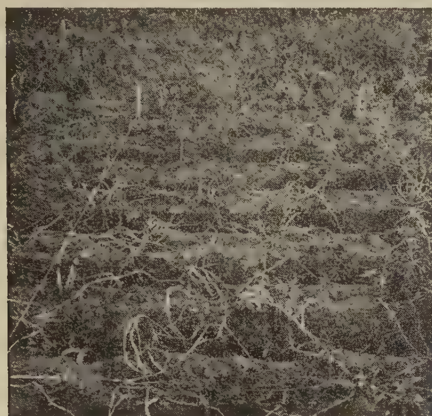


Fig. 1. — Afwezigheid van spruiten van *Polygonum amphibium L.* op 6 sept. 1955 waar 40 kg/ha DPA werd toegediend op 24 jan. 1955.

No Polygonum amphibium L. growth on 6. *sept.* 1955 *where* 40 *kg/ha DPA was applied on* 24. *jan.* 1955.

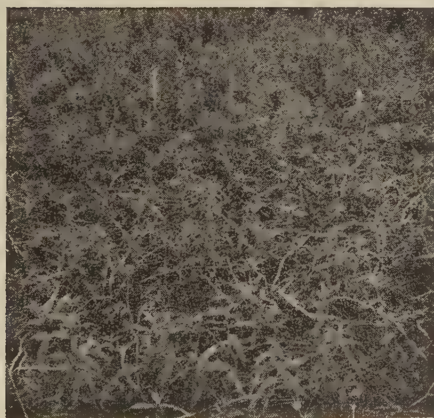


Fig. 2. — Spruiten van *Polygonum amphibium L.*, veenwortel, tussen het dode aardappelloof op een kontroleperceel met Bintje (6 sept. 1955).

Sprouts of Polygonum amphibium L. between the dead potato haulms on a control plot with Bintje (6. *sept.* 1955).

Invloed op aardappelen

De proef ter bestrijding van *Polygonum amphibium L.* werd uitgevoerd op zandgrond, na stoppelrapen (Tabel 4 : Proef SD.55.1). In het voorjaar werden aardappelen verbouwd, nl. *Bintje* als half vroege- resp. *Record* als late variëteit.

Uit Tabel 2 blijkt dat het TCA een ongunstige invloed kan hebben op de aardappelproduktie. De opbrengst op de DPA percelen steekt hier gunstig tegen af, wat vermoedelijk te wijten is aan de aanzienlijke onderdrukking van *Pylygonum amphibium L.* door het DPA natrium.

TABEL 2

Invloed op aardappelen — *Influence on potatoes*

(Plantdata : Bintje = 7/4/55, Record = 27/4/55)

Behandeling *Treatment* kg/ha		Loofontwikkeling *Leaf development* 10 = stand op kontrole percelen 10 = *stand on control plots*				Relatieve produktie *Relative production*	
		31 mei 1955		10 juni 1955		Bintje 6/9/55	Record 20/9/55
24/1/55	2/3/55	Bintje	Record	Bintje	Record		
1. T.C.A. Na							
20	—	10	10	10	10	100,4	108,8
40	—	9	9	10	9½	106,4	108,0
—	20	8	10	8*	9½	96,5	107,1
20	20	9	9	8*	9	104,7	101,9
2. D.P.A. Na							
20	—	8	9½	9**	9¾	87,0	86,3
40	—	8	10	9½	9½	85,0	77,4
—	20	6	8½	8½**	9¼	79,3	98,9
20	20	6	8	7**	8½	81,9	80,7
3. Kontroles (6)		10	10	10	9¼	100,0 ±3,17	100,0 ±2,10
		Absoluut gewicht in kg/ha......				41.750	40.450

(*) gekroesde bladeren
(**) korter en ijler loof

Invloed op haver

Volgens hetzelfde proefschema als voor de aardappelen werden rond dezelfde tijdstippen over een geploegde akker (geploegd op 15 september 1954) dezelfde bespuitingen met DPA- resp.

TCA natrium uitgevoerd op zandleemgrond (Tabel 4 : Proef M.55.2). Na de winter werd opnieuw geploegd (15 april 1955) en haver ingezaaid (29 april 1955).

Tabel 3 toont aan dat winterbehandelingen met TCA of DPA een zeer lange nawerking kunnen hebben. Onder de gegeven omstandigheden zijn deze middelen nog uiterst gevaarlijk voor een gramineeënteelt als haver. DPA veroorzaakte opvallend meer schade dan TCA; met 40 kg/ha DPA werd de haver zelfs bijna volledig vernietigd.

TABEL 3

Invloed op haver (Marne) — *Influence on oat*

Behandeling *Treatment* kg/ha		Gewas (0–10) *Crop* (0–10)		Relatieve produktie *Relative production*		Kiemkracht *Germination* %	Onkruid* *Weeds** Relatief gewicht *Relative weight*
		Opkomst *Emergence*	Jeugdontwikkeling *Youth developm.*	Graan *Grain*	Stro *Straw*		
26/1/55	3/3/55	7/5/55	27/5/55				16/8/55
1. **T.C.A. Na**							
20	—	7½	9½	87,1	87,7^{+}		116,9
40	—	3	1	47,4^{++}	40,0^{++}	84	363,2^{++}
—	20	10	9½	100,3	97,4		49,5
20	20	7½	2	73,9^{++}	73,6^{++}		232,0^{++}
2. **D.P.A. Na**							
20	—	6	9½	53,8	48,8^{++}	86	323,9^{++}
40	—	2	½	18,4^{++}	16,2^{++}	81½	642,0^{++}**
—	20	10	9	95,8	89,5		134,4
20	20	5½	1	47,5^{++}	40,5^{++}	80	411,4^{++}
3. **Kontroles** (6)		10	10	100,0	100,0	88	100,0
		$m_{D.t}$ voor P 0.05 ..		±12,0	±11,3		± 68,5
		P 0.01 ..		±19,9	±18,7		±113,6
		Absoluut gew. (kg/ha)		3.251	4.445		2.285

(*) *Polygonum persicaria L.* en *P. nodosum Pers.*
(**) 642 = 14.670 kg/ha.

De natriumzouten van TCA als van DPA zijn goed oplosbaar in water en kunnen, inzonderheid in humusarme gronden (Tabel 4), vrij diep in de bouwvoor doordringen, vooral na voorafgaand

ploegen. Tijdens de winter wordt anderzijds de afbraak van TCA en DPA fel vertraagd tengevolge van de lagere temperaturen en de daaruit voortvloeiende geringere bakteriële aktiviteit. (6, 8, 11, 12)

In onderhavig geval werden de ingeloogde, nog aktieve herbiciden na de winter opnieuw bovengeploegd, waardoor de haver 3 maanden na de toediening nog kon beschadigd worden. Daarentegen konden later tweezaadlobbige éénjarige onkruiden als *Polygonum persicaria L.*, perzikkruid, en *P. nodosum Pers.*, knopige duizendknoop, overvloedig kiemen en opschieten. Vooral waar de haver zwaarst geleden had was de groei van deze onkruiden zeer weelderig (Figuur 3).

Fig. 3. — Links : haver gedood door DPA natrium toegediend op 24 jan. 1955 aan 40 kg/ha.
Rechts : stand van de kontroleplanten op 16 juni 1955.
Left : oat damaged by DPA sodium salt applied at 40 kg/ha on 24.1.55.
Right : control plot on 26. juin 1955.

Invloed van winterbehandelingen op nietgrasachtige teelten

In 1956 werden nieuwe DPA en TCA bespuitingen tijdens de winter over een geploegd veld uitgevoerd. Even vóór het zaaien werd in het voorjaar de grond met een extirpator tot 15-20 cm diepte omgewoeld. De niet afgebroken herbicide stof werd hierdoor terug aan de oppervlakte gebracht en verder doorheen de gehele, vrij humusarme bouwlaag gemengd (Tabel 4 : Proef PT.55.7).

Nadien werden niet-grasachtige teelten gezaaid. Al de beproefde gewassen hadden van bij hun opkomst van de winterbehandelingen te lijden. Minst beschadigd waren voederbieten, iets meer leden aardappelen, terwijl aan vezelvlas en peulvruchten (ronde groene erwten, paardebonen en wierbonen) zeer zware schade werd veroorzaakt. Zelfs bespuitingen uitgevoerd in januari veroorzaakten nog ernstige schade aan de gewassen gezaaid in april.

Waar we daarentegen tijdens het dode seizoen spoten over een niet geploegde stoppel en een maand nadien ploegden, werd er zelfs door 50 kg TCA of 20 kg/ha dalapon geen schade aan voederbieten aangericht — ook niet wanneer de behandelingen slechts één maand vóór het zaaien geschiedden.

Vooral op humusarme gronden met weinig kolloïdale bestanddelen blijkt het gevaarlijk te zijn de winterbespuitingen na ploegen uit te voeren, tenminste wanneer nadien vrij diepgaande bodembewerkingen plaats vinden, z.a. herploegen of grubberen, daar zodoende het nog niet afgebroken herbicide terug aan de oppervlakte wordt gebracht. Volgt er bovendien een droog voorjaar dan kan de schade aan de teelten aanzienlijk worden doordat bij gebrek aan vochtigheid enerzijds het DPA of het TCA te traag opnieuw inloogt en anderzijds ook de bakteriële afbraak geremd wordt. Dit werd duidelijk bewezen in het voorjaar 1956 (Figuren 4 en 5).

Fig. 4. — Schade door DPA natrium in vezelvlas (Wiera).
V.l.n.r. :
1. kontrole
2. DPA 20 kg/ha toegediend op 13 jan. 1956
3. DPA 10 kg/ha toegediend op 13 jan. en herbehandeling met 10 kg/ha op 6 maart 1956
4. DPA 10 kg/ha op 13 jan. 1956
5. kontrole

Foto : (12 mei 1956)

Damage on fibre flax (Wiera) by DPA sodium
1. *Control plot (extreme left)*
2. *DPA 20 kg/ha applied on 13. jan. 1956*
3. *Split application : DPA 10 kg/ha applied on 13. jan. 1956 and 10 kg/ha on 6. march 1956*
4. *DPA 10 kg/ha on 13. jan. 1956*
5. *Control plot (extreme right)*

Photo : (12. *may* 1956)

Fig. 5. — Vertakking bij vezelvlas (Wiera) veroorzaakt door DPA toegediend aan 10 kg/ha over de bodem tijdens de winter (op 13 jan. 1956)
(Foto : 19 mei 1956)

Ramification of fibre flax (Wiera) caused by DPA at 10 kg/ha, applied during the winter (on 13. jan. 1956)
(Photo : 19 *may* 1956)

Op een niet vooraf geploegde akker dringen deze middelen, zelfs in humusarmere en minder kleiïge gronden, niet zo diep door, zodat ze bij achteraf ploegen op een veiliger diepte blijven.

TABEL 4

Physico-chemische en granulometrische bodemeigenschappen (*)

Physico-chemical and granulometric characteristics of the soil

Proef-nummer	pH KCl	pH H_2O	Humus-gehalte	Deeltjes grootte							
				0–2 μ	2–10 μ	10–20 μ	20–50 μ	50–105 μ	105–210 μ	210–500 μ	500–1000 μ
SD. 55.1	4,8	6,3	1,76	2,9	1,0	1,5	5,3	35,7	46,3	7,0	0,3
M. 55.2	5,2	6,5	1,03	9,9	3,8	8,2	38,4	24,4	13,9	1,3	0,1
LM. 55.1	5,3	6,65	1,58	11,6	6,0	12,5	52,6	16,5	1,2	0,4	0,2
LK. 55.1	5,25	6,5	0,80	5,6	2,3	5,2	44,1	25,0	16,1	1,6	0,1
PT. 55.7	6,0	7,0	1,19	8,3	3,6	6,8	32,4	27,8	18,8	2,2	0,1

(*) Het physico-chemisch en granulometrisch onderzoek van de gronden werd uitgevoerd door het Laboratorium voor Aard- en Bodemkunde van de Rijkslandbouwhogeschool, Gent, waarvoor hartelijk dank aan Prof. Dr L. De Leenheer en Ing. M. De Boodt.

Bestrijding van Agropyron repens P.B., kweek

Het rhizomenvormend onkruid op de met haver bezaaide percelen was kweekgras, *Agropyron repens P.B.* Op het ogenblik van de behandelingen waren er bovengronds nog geen spruiten gevormd ingevolge het ploegen op wintervoor, zodat evenals voor veenwortel ook hier het DPA natrium alleen via de ondergrondse plantendelen kon geabsorbeerd worden.

Tabel 5 geeft de resultaten van de kweekbestrijding :

— na de oogst van de haver blijkt de bezetting met kweekspruiten uiterst gering te zijn op de percelen behandeld met DPA;

— ondanks deze opvallend geringere bezetting in vergelijking met de TCA percelen, blijken de rhizomen de behandelingen beter te hebben overleefd dan men voortgaande op deze spruiten verwachten zou;

— de kweekrhizomen werden weliswaar iets beter gedood door DPA dan door TCA maar toch ligt het gewicht van de overblijvende massa zeer dicht in de buurt van deze afkomstig van de percelen behandeld met TCA natrium.

TABEL 5

Bestrijding van Agropyron repens P.B. vóór haver

Control of Agropyron repens P.B.

Behandeling *Treatment* kg/ha		Groene spruiten van kweek *Green sprouts of quack grass*		Rhizomen : relatief gewicht *Rhizomes : relative weight*
26/1/55	3/3/55	100 = 90% bezet 31/3/55	100 = 60% bezet 13/9/55	13/9/55
1. T.C.A. Na				
20	—	30	15	48,0
40	—	32	3	46,5
—	20	89	33	46,8
20	20	34	40	49,8
2. D.P.A. Na				
20	—	25	8	42,4
40	—	46	0	42,7
—	20	80	8	45,3
20	—	29	3	41,1
3. Kontroles (6)		100	100	100 ± 13,1*

(*) 100 = 186,9 g per m² en tot op 0,3 m diepte.

Waar evenwel het DPA natriumzout ook via het blad opgenomen wordt bekomt dit middel een opvallend betere herbicide-

20

werking dan wel het TCA natrium, dat enkel via de bodem wordt geabsorbeerd. Dit blijkt duidelijk uit Tabel 6, waarin de kweekbestrijding in een griend wordt medegedeeld (Tabel 4 : Proef LM.55.1).

TABEL 6

Bestrijding van Agropyron repens P.B. in griend

Control of Agropyron repens P.B. in willow culture

Behandeling *Treatment* kg/ha		Nieuwe spruiten — *New sprouts* 10 = volledig bezet met kweek 10 = *all covered with quack grass*		Rhizomen : relatief gewicht *Rhizomes : relative weight*
17/3/55	6/4/55	6/4/55	9/8/55	A.D.S. 7–10/12/55
1. D.P.A. Na				
25	—	¼	0	81,1
12½	12½	—	0	7,7
12½	—	0	¼	115,0
—	12½	—	0	3,7
—	6¼	—	0	0,0
2. T.C.A. Na				
50	—	½	¼	80,2
25	12½	—	0	45,1
25	—	1	0	137,5
—	25	—	¼	6,7
3. C.M.U.				
5	—	4	0	0,2
2½	1¼	—	½	5,7
2½	—	4	1	12,3
—	2½	—	0	0,1
4. Kontroles (7)		9	8½	100 ± 24,2*

(*) 100 = 92,23 g per m^2 en tot op 0,3 m diepte.

Bij de eerste behandelingen op 17 maart 1955 waren er nog geen levende kweekspruiten aanwezig terwijl dit wel was bij de tweede reeks bespuitingen op 6 april 1955; door de eerste toepassingen werden de rhizomen niet en door de tweede wel gedood met DPA.

Opnieuw wordt echter ook bevestigd dat wanneer TCA dichter bij het groeiseizoen en bij stijgende temperaturen wordt toegediend men een opvallend betere kweekbestrijding bekomt (9). Volgens B y l t e r u d is er overigens minder TCA vereist om

de physiologische rustperiode van de rhizomen eenvoudig te verlengen dan ze tijdens hun actieve groei tot rust te dwingen (4).

Fig. 6. — Bestrijding van *Agropyron repens P.B.* met $6^1/_4$ kg/ha DPA natrium, toegediend in een griend op 6-4-55. Foto genomen op 6-12-55 na het kappen van de wilgentenen

Excellent control of Agropyron repens with $6^1/_4$ kg/ha DPA sodium, applied in a Salix viminalis-osiery on 6.4.55. Photo taken on 6.12.55 after cutting the willows

CMU bewijst eens te meer een uitstekend middel te zijn tegen *Agropyron repens*. Zeer geringe doses volstaan in het voorjaar om kweek volledig te vernietigen (9).

Invloed op wilgentenen

De wijmen zelf lijden zeer veel van een CMU toediening, zelfs wanneer dit na de kap tijdens het dode seizoen over de stoven geschiedt. Niet enkel is de opbrengst geringer doch ook de kwaliteit verslecht aanzienlijk terwijl het gewas bovendien korter blijft.

DPA natrium daarentegen heeft een bijzonder gunstige invloed op de wilgentenen (Tabel 7) :

— de opbrengst verhoogt aanzienlijk o. m. ook doordat de kweek en derhalve de konkurrentie om bodemvocht wordt uitgeschakeld, wat vooral tot uiting kwam tijdens de vrij droge zomer van 1955;

— de wijmen kunnen merkelijk langer worden, zodat er een vrij groot percentage in de hoogste lengteklasse valt;

— de kwaliteit van de wissen is bovendien van het hoogste gehalte waar DPA wordt aangewend; de kontroles bekomen een veel geringere kwotering o.m. als gevolg van de kweekkonkurrentie.

TABEL 7

Invloed op wilgentenen (Salix viminalis L. — 4 jaar)

Influence on willow (Salix viminalis L. — 4 years)

Behandeling *Treatment* kg/ha		Relatieve produktie *Relative production*	Sortering : relatief gewicht (%) *Classification : relative weight (%)*					Kwaliteit *Quality* 1-5*
17/3/55	6/4/55	6/12/55	100/ 140 cm	140/ 180 cm	180/ 220 cm	220/ 250 cm	250/ 300 cm	
1. D.P.A. Na								
25	—	125,2	6,6	13 ,3	35,6	27,0	7,6	4
12½	12½	166,9	3,8	7,1	17,9	43,9	27,4	2
12½	—	132,1	5,7	10,3	25,3	36,4	22,4	3
—	12½	156,7	3,5	8,5	22,6	36,2	29,1	2
—	6¼	158,3	6,0	7,0	19,9	33,3	33,8	1
2. T.C.A. Na								
50	—	95,7	8,4	16,0	34,8	36,5	4,1	5
25	12½	133,5	6,0	12,7	23,0	39,8	18,6	2
25	—	123,6	4,5	10,8	25,5	33,1	26,1	5
—	25	133,9	5,9	11,8	27,1	32,4	22,9	2
3. C.M.U.								
5	—	88,1	6,8	21,0	37,0	31,0	4,2	5**
2½	1¼	93,7	7,6	11,3	26,9	43,7	10,5	5**
2½	—	84,6	9,8	22,3	41,4	26,5	0,0	5**
—	2½	104,3	6,0	9,4	22,6	32,1	29,8	5**
4. Kontroles (7)		100,0*** ±8,9	6,2 ±0,9	21,5 ±5,2	32,2 ±3,1	25,1 ±4,2	15,1 ±5,5	4

(*) Kwaliteit — *Quality* :
1 = zeer goed — *very good* (elasticiteit, glans, kleur)
2 = goed — *good*
3 = matig — *average*
4 = vrij slecht — *fairly bad*
5 = slecht — *bad*
(**) Langer in blad; broos, mat, blauwachtig.
(***) 100 = 12.690 kg/ha

In 1956 werd vastgesteld dat bij iets te late aanwending op de uitlopende wilgenknoppen deze worden vernietigd en zelfs het gehele gewas kan verloren gaan.

Invloed op cichorei

Niet enkel is de herbicide werking van dalapon ruimer en heviger dan van TCA doch daarenboven bleek het in bepaalde teelten, in tegenstelling met andere grasherbiciden, zelfs mogelijkheden te bieden tot pre- en vnl. tot post-emergence aanwending (Tabellen 8 en 9).

TABEL 8

Grasherbiciden in cichorei — *Grassherbicides in cichory*

0 = geen cichorei; 10 = de beste stand
0 = *no cichory;* 10 = *the best stand*

Tijdstip *Time of application*	Middel *Compound* kg/ha	Opkomst *Emergence* 27/5/55	Jeugdgroei *Youth growth* 20/6/55	Bedekking *Covering* 4/7/55
Pre-sowing (15/4/55)	D.P.A. Na : 10	9	8	9½
	T.C.A. Na : 10	9	5	7
	I.P.C. : 10	½	2	2½
Pre-emergence (28/4/55)	D.P.A. Na : 2½	7½	8	9½
	D.P.A. Na : 5	7	8	9½
	T.C.A. Na : 5	4	8	9½
	I.P.C. : 10	2	5	½
	C.M.U. : ½	¼	0	0
	C.M.U. : 1	¼	0	0
Post-emergence (23/5/55)	D.P.A. Na : 2½	—	10	10
kiemlobben – 2 bladen	D.P.A. Na : 5	—	5	7
cotyledons – 2 leaves	D.P.A. Na : 10	—	5	4½
Kontroles : gem. van 5 blanko's............		9	9	10

Zaaidatum : 22 april 1955.
Percelen onkruidvrij gehouden door schoffelen.

Cichorei verdroeg uitstekend 2½ kg/ha DPA natrium toegediend na de opkomst (Tabel 4 : Proef LK.55.1). Vermoedelijk kan men tijdens het 4-bladstadium de hoeveelheid nog iets opvoeren. Anderzijds kan deze hoeveelheid tot vlak vóór het zaaien tot 10 kg/ha bedragen. CMU en IPC blijken daarentegen bepaald gevaarlijk te zijn.

Invloed op voederbieten

Bij voederbieten (Tabel 9) komt de grotere resistentie voor een post-emergence dan voor een pre-emergence behandeling met dalapon nog beter tot uiting (Tabel 4 : Proef PT.55.7). Voederbiet weerstond nog vrij behoorlijk aan 5 kg/ha. Warren (13), Alley en Bohmont (1) deelden mede dat in suikerbieten nog 6 lb/acre post-emergence (4 bladeren) kunnen toegediend worden. Nochtans wordt gewaarschuwd voor te hoge temperaturen, waardoor de selektiviteit aanzienlijk vermindert; als optimale temperatuur geven Alley en Bohmont (1) 60° F aan (of ca. 15° C).

TABEL 9

Invloed op voederbieten — *Influence on fodderbeets*

0 = geen bieten   10 = stand op de kontrolpercelen
0 = *no beets*   10 = *stand on the control plots*

Behandeling *Treatment* kg/ha	Opkomst *Emergence* 24/5/55	Jeugdgroei *Youth growth* 9/6/55	Bedekking *Covering* 21/7/55
A. Pre-emergence (21/4/55)			
1. D.P.A. Na : 2½	5½	11	4½
D.P.A. Na : 5	3½	7	4½
D.P.A. Na. : 10	1	4	4
2. T.C.A. Na : 5	6	11½	6½
T.C.A. Na : 5	3½	5½	4
3. I.P.C. : 10	3½	4	4
4. Kontroles (8)	10	10	10
B. Post-emergence : 2(–4) echte blaadjes (24/5/55)			
1. D.P.A. Na : 2½	—	8	8½
D.P.A. Na : 2½	—	9½	8½
2. Kontroles (5)	—	10	10

Zaaidatum : 15 april 1955
Percelen onkruidvrij gehouden door schoffelen.

Bestrijding van Deschampsia caespitosa P.B., smele

Zeer sterk kwam de invloed van de temperatuur op de werking van het DPA natrium tot uiting bij dalapon aanwendingen tegen smele of boendergras, *Deschampsia caespitosa* P.B. (10). Anderzijds speelt het tijdstip een zeer grote rol : de winterbehandelingen hebben weinig invloed, terwijl behandelingen in de nazomer uitstekend en deze tijdens het najaar nog vrij goed zijn. Tenslotte blijkt bij strooien in de horsten de opname via het blad zeer gering te zijn en is er vier maal meer DPA vereist dan bij verspuiten met 1.000 l/ha water. (Tabel 10)

Bestrijding van Glyceria species

Andere gramineeën kunnen nog vrij laat op het seizoen met dalapon worden bestreden (10). *Glyceria fluitans R. Br.*, mannagras, is in december nog gevoelig voor DPA natrium (10-20 kg/ha). *Glyceria maxima Wahlb.*, liesgras, kan op het einde van het jaar nog bestreden worden met 25-50 kg/ha DPA, zelfs wanneer de planten met de voet in het water staan daar de opname dan nog via het blad kan geschieden terwijl TCA in dergelijke omstandigheden maar weinig invloed meer op liesgras heeft.

TABEL 10

Bestrijding van Deschampsia caespitosa P.B., smele

Control of Deschampsia caespitosa P.B. tufted hairgrass

Datum 1955	Water l/ha	Temperatuur °C	D.P.A. natrium		T.C.A. natrium	
			zuur equiv.	% t.o.v. blanko	zuur equiv.	% t.o.v. blanko
26 januari	1.000	3.5	5 kg/ha	51.7	20 kg/ha	124.0
(winter)	1.000	3.5	10 kg/ha	18,5	40 kg/ha	85.0
6 september	1.000	22.5	5 kg/ha	7.6	20 kg/ha	88.4
(nazomer)	1.000	22.5	10 kg/ha	1.2	40 kg/ha	44.8
21 november	1.000	8.0	5 kg/ha	38.3	20 kg/ha	55.0
(najaar)	0*	8.0	20 kg/ha	38.0	40 kg/ha	41.7

(*) gestrooid in de horsten

Fig. 7. — Voorgrond : *Glyceria maxima Wahlb.* onderdrukt door DPA natrium, toegediend aan 25 kg/ha op 27 dec. 1954

(Foto : 9 mei 1955)

Foreground : Glyceria maxima Wahlb. suppressed by DPA sodium, applied at 25 kg/ha on 27. dec. 1954
Back-ground : untreated

(Photo : 9. *may* 1955)

Fig. 8. — Misvormingen veroorzaakt door DPA bij *Glyceria maxima Wahlb.*, liesgras, welke wijzen op de groeistofwerking van dit herbicide
(Foto : 14 mei 1956)

Abnormalities caused by DPA on Glyceria maxima Wahlb. which show the growth regulating action of this herbicide
(Photo : 14. *may* 1956)

BESLUITEN

— Het natriumzout van DPA of dalapon, 2,2-dichloorpropionzuur, is een uitstekend herbicide tegen doorlevende grassen z.a. *Agropyron repens P. B.*, kweek, *Deschampsia caespitosa P. B.*, smele, en *Glyceria spp.*, vlotgrassen, doch ook andere doorlevende rhizomenvormende onkruiden, z.a. *Polygonum amphibium L.*, veenwortel, kunnen er mee worden bestreden.

— Kan de absorptie van het middel slechts via de ondergrondse plantendelen geschieden dan is de werking van DPA enkel lichtjes sterker dan deze van TCA.

— Kan DPA ook via het blad opgenomen worden dan bezit het een opvallend betere werking dan TCA, dat slechts via de bodem werkt.

— Bij toediening van DPA over het blad is er merkelijk meer produkt vereist bij strooien dan bij spuiten.

— Hogere temperaturen verhogen de werking van DPA natrium.
— Zelfs op humusrijke en kleiïger bodems volgen er na een winterbehandeling met DPA of TCA best geen gramineeën teelten.
— Aardappelen kunnen een lichte opbrengstvermindering door DPA of TCA ondergaan na wintertoepassing, wanneer de onkruidbestrijding minder goed slaagt.
— Vlas, peulvruchten (erwten en bonen) en zelfs bieten kunnen zware schade lijden na winterbehandelingen met DPA of TCA wanneer het niet afgebroken herbicide terug aan de oppervlakte wordt gebracht. De kans op beschadiging wordt verhoogd :
  - door vooraf te ploegen;
  - op humusarme gronden met een gering gehalte aan kolloïdale bestanddelen;
  - bij droge voorjaarsomstandigheden.
— In wortelgewassen als bieten en cichorei zijn pre- en post-emergence (4-6 bladeren) behandelingen met geringe doses DPA mogelijk. Deze teelten blijken iets beter post- dan pre-emergence bespuitingen te verdragen. Verder onderzoek in deze richting is gewettigd.
— In een gekapte griend kan men DPA en ook TCA over de stoven toedienen. Vooral DPA bezit een zeer gunstige invloed op de wilgentenen. Vanaf het zwellen van de wilgenknoppen mag men echter geen grasherbicide meer aanwenden.

Dankwoord

Gaarne nemen we deze gelegenheid te baat om onze erkentelijkste dank te richten aan hen die deze onderzoekingen mogelijk maakten en aan de talrijke gelegenheidsmedewerkers. Speciaal danken we van de Rijkslandbouwhogeschool-Gent Prof. Ing. J. Van den Brande, Rektor, en Prof. Ing. M. Slaats, Laboratorium voor Plantenteelt. Ook aan het Instituut tot Aanmoediging van het Wetenschappelijk Onderzoek in Nijverheid en Landbouw, dat diverse van deze onderzoekingen financieerde, onze warmste dank.

RESUME

Le sel sodique de l'acide 2,2-dichloropropionique comme herbicide dans quelques cultures

— Le sel sodique du DPA ou dalapon, l'acide dichloropropionique, est un herbicide excellent contre les graminées vivaces, comme p. ex. *Agropyron repens P.B.*, chiendent, *Deschampsia caespitosa P.B.*, canche cespiteuse, et *Glyceria spp.*, glycéries. Certaines plantes adventices non-graminées et formant des rhizomes, tel que *Polygonum amphibium L.*, renouée amphibie, peuvent être détruites également par le DPA.

— Quand l'absorption du produit ne peut se faire que par les parties sousterraines des plantes, l'action du DPA n'est guère plus forte que celle du TCA, l'acide trichloro-acétique.

— Si au contraire le DPA peut être absorbé également par les parties aériennes des plantes à détruire, son action est remarquablement meilleure que celle du TCA, qui n'agit que par absorption par les racines et rhizomes.

— En appliquant le DPA sur les feuilles, une plus forte dose est recquise si le produit est épandu que s'il est pulvérisé.

— Aux températures plus élevées, l'action du DPA est plus intense.

— Même en sols argileux, riches en humus, on fait bien de ne pas semer des plantes graminées si un traitement d'hiver au DPA ou au TCA vient d'être pratiqué.

— Des traitements pendant l'hiver au moyen du DPA ou du TCA peuvent être la cause d'une production moins bonne des pommes de terre, surtout quand la destruction des plantes adventices a mal réussi.

— Le lin, les légumineuses à graines (pois, fèves) et même les betteraves peuvent subir de grands dégâts après des traitements d'hiver au DPA ou au TCA, si l'herbicide non-décomposé est ramenée à la surface du sol. Ce danger est plus grand :

- quand la terre est labourée avant l'application du DPA ou TCA
- en terres, pauvres en humus et qui ne contiennent que peu de matières colloïdales
- par temps sec au printemps.

— Dans les plantes racines, tel que les betteraves et la chicorée, on peut pratiquer des traitements pré- ou post-émergence (4-6 feuilles), mais avec des doses peu élevées de DPA. Ces cultures supportent un peu mieux une pulvérisation post- que pré-émergence. Des recherches en ce domaine doivent être poursuivies.

— Dans une oseraie coupée on peut administrer le DPA et aussi le TCA. Surtout le DPA a même une action favorable sur les osiers. Dès le début du bourgeonnement des souches on ne peut plus appliquer ces herbicides.

SUMMARY

The sodium salt of 2,2-dichloropropionic acid as an herbicide in some crops

— The sodium salt of D.P.A. or ,,dalapon", dichloropropionic acid, is an excellent herbicide for the control of perennial grasses, e.g. *Agropyron repens* P. B., quack grass, *Deschampsia caespitosa P. B.*, tufted hair grass, and *Glyceria spp.*, sweet grass. However this compound can also be used against other weeds forming rhizomes, such as *Polygonum amphibium L.*, amphibious knot-grass.

— The action of DPA is not much stronger than this of TCA, trichloroacetic acid, when the compound is absorbed only by the subterraneous parts of the plants.

— If DPA on the other hand can also penetrate through the leaves its herbicidal action becomes much greater than this of TCA, which is absorbed only by the roots and rhizomes.

— For leaf application much more DPA is needed when the herbicide is strewed in stead of sprayed on the weeds.

— Higher temperatures increase the activity.

— Even in a clay soil, rich in humus, it is better not to sow a graminous crop following winterapplication with DPA or TCA.

— The yield of potatoes following a wintertreatment with DPA or TCA may be decreased if the weed control obtained is poor.

— Flax, peas, beans and even beets can be damaged after a wintertreatment with DPA or TCA if the herbicide, which is not decomposed, is brought to the surface. The danger is greater :

- when the soil is ploughed up before the treatment
- on a soil with a low humus content containing only a low percentage of colloidal substances
- when there is a long dry spell during the spring.

— In root crops, as beets or chicory, it is possible to apply DPA in low dosages pre- or post-emergence (4-6 leaves). Post emergence applications can be somewhat better tolerated by these crops than pre-emergence treatments.

— In a willow culture DPA and also TCA can be applied on the stubs. Especially DPA has a favourable influence on willow. The application of these herbicides in a willow culture becomes risky as soon as the buds start to swell.

ZUSAMMENFASSUNG

Das Natriumsalz von 2,2-Dichlorpropionsäure als Herbizid in einige Gewächse

— Das Natriumsalz der Dichlorpropionsäure („Dalapon", □D. P.A.) hat sich als ausgezeichnetes Herbizid gegen ausdauernde Gräser, wie Quecke (*Agropyron repens P.B.*), Rasenschmiele (*Deschampsia caespitosa P.B.*) und Süssgras (*Glyceria spp.*) erwiesen. Auch ausdauernde, Rhizome bildende Unkräuter wie der Wasserknöterich (*Polygonum amphibium L.*) können mit DPA bekämpft werden.

— Wird DPA infolge der Art der Behandlung nur durch die unterirdischen Pflanzenteile aufgenommen, so ist die Wirkung des Mittels nur wenig besser als die von TCA (Trichloressigsäure).

— Bei einer Blattbehandlung dagegen wird DPA auch von den Blättern aufgenommen, und dann ist die Wirkung auffallend besser als die von TCA, das nur durch Wurzeln und Rhizome in die Pflanzen eindringt.

— Diese Blattbehandlung erfordert im Streuverfahren weit höhere Aufwandmengen DPA als im Spritzverfahren.

— Höhere Temperaturen verstärken die Wirkung von DPA.

— Selbst auf humusreichen lehmigen Böden, die den Abbau der Mittel begünstigen, sollte auf eine Winteranwendung von DPA oder TCA im folgenden Frühjahr keine grasartige Kultur angebaut werden.

— Auch Kartoffeln können eine leichte Ernteminderung erleiden, wenn nach Winteranwendung von DPA oder TCA der Bekämpfungserfolg nicht ausreicht.

— Flachs, Hülsenfrüchte (Erbsen, Bohnen) und selbst Rüben können nach dieser Winterbehandlung mit DPA oder TCA gleichfalls schwer geschädigt werden, wenn die noch nicht abgebauten Herbizide an die Bodenoberfläche gebracht werden. Die Gefahr nimmt zu :

- wenn der Boden vor der Behandlung gepflügt wurde;
- auf humusarmen Böden mit niedrigem Kolloidgehalt;
- bei trocknem Wetter im Frühjahr.

— In Hackfrüchten, wie Rüben und Zichorie, kann DPA in kleinen Aufwandmengen vor oder nach dem Auflaufen angewandt werden. Die genannten Arten scheinen die Spritzung nach dem Auflaufen im 4-6 Blattstadium besser zu vertragen. Hier sind weitere Untersuchungen vonnöten.

— In Korbweidenkulturen können DPA und TCA über die Stubben gespritzt werden. Besonders bei DPA lässt sich ein sehr günstiger Einfluss auf die Weiden nachweisen, doch dürfen beide Mittel vom Beginn des Knospenschwellens ab nicht mehr angewandt werden.

LITERATUUR

1. ALLEY, H. P. and BOHMONT, D. W. — (1956). Dalapon for control of weeds in sugar beets. *Journal Paper n° 72*. Wyoming Agricultural Exp. Station (*Down to Earth*, **11**, n° 4, 10-11).
2. ANDERSON, R. N. and HELGESON, E.A. — (1945). Some effects of post-emergence applications of dalapon to wild oats. Weeds, **3**, 351-358.
3. ANONYMUS — (1953). Dalapon — a new systemic grass killer introduced for control of industrial vegetation. *Down to Earth*, **9**, nr 3, 10-11.
4. BYLTERUD, A. — (1956). Bekempelse av kveke med TCA og diklorpropionsyre. *Samvirke*, nr 5, 1. mars.
5. DAVIDSON, J. H., WARREN, L. E. and FISHER, J. R. — (1955). Preliminary reports on the use of dalapon in fruit planting. *Down to Earth*, **10**, nr 4, 22-24.
6. KUTSCHINSKI, A. H. — (1954). A laboratory method of determining the stabil-lity of dalapon sodium salt on soil and other media. *Down to Earth*, **10**, nr 3, 14-15.
7. OSVALD, H. and ÅBERG, E. — (1954). Recent experiences with herbicides for eradication of Agropyron repens P .B.. Proceedings of the 2nd British Weed Control Conference, 187-193.
8. RÖHRIG, E. — (1956). Beitrage zur Kenntnis der Wirkungsweise der 2,2-dichlorpropionsäure als Herbizid. *Mededelingen van de Rijkslandbouwhoge-school en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent*, **21**, 617
9. SLAATS, M. en STRYCKERS, J. — (1954). Herbiciden tegen Agropyron repens P. B., kweekgras. *Mededelingen van de Rijkslandbouwhogeschool en de Op-zoekingsstations van de Staat te Gent*, **19**, nr 3, 423-450.
10. SLAATS, M. en STRYCKERS, J. — (1956). Nationaal Centrum voor Grasland- en Groenvoederonderzoek. Beknopt Verslag aan het I.W.O.N.L. over de Onderzoekingen uitgevoerd in 1954-55. Rijkslandbouwhogeschool-Gent, pp. 18.
11. SOUTHWICK, L. — (1955). New leads from recent field research with dalapon. *Down to Earth*, **11**, nr 3, 6-7.
12. THIEGS, B. J. — (1955). The stability of dalapon in soils. *Down to Earth*, **11**, nr 2, 2-4.
13. WARREN, L. E. — (1954). The control of annual grasses in sugar beets with dalapon. Proceedings of the Eighth Annual Meeting of the American Soc. of Sugar Beets. *Down to Earth*, **9**, nr 4, 2-4.

BEITRÄGE ZUR KENNTNIS DER WIRKUNGSWEISE DER 2,2-DICHLORPROPIONSÄURE (DPA) ALS HERBIZID

Von

E. Röhrig

Universität Göttingen

Die Fortwirtschaft hat ein dringendes Interesse an einem Herbizid, das verunkrautete Kahlflächen rasch und vollständig säubert, aber nur kurze Zeit im Boden wirksam bleibt, damit die Fläche alsbald kultiviert werden kann. Das Mittel sollte nicht tief in den Boden eindringen, um ältere Bäume nicht zu schädigen, damit man es auch zur Unkrautbekämpfung in älteren Baumbeständen für die Vorbereitung der natürlichen Verjüngung benutzen kann.

Es liegt auf der Hand, dass ein derartiges Herbizid auch für andere als forstliche Zwecke eingesetzt werden könnte, z.B. in Obstplantagen usw.

Die schon länger bekannten Herbizide genügen diesen Anforderungen nicht, teilweise wegen ihrer zu geringen Wirkungsbreite (z.B. 2,4 D) oder ihres ungenügenden Wirkungsgrades (z.B. CIPC), teilweise wegen ihrer zu lange anhaltenden Nachwirkung im Boden und ihrer Toxizität für ältere Bäume (z.B. CMU und TCA). Dagegen besitzt die erst kürzlich als Herbizid bekannt gewordene 2,2-Dichlorpropionsäure (*) (in den USA DPA oder Dalapon genannt) eine Reihe von Eigenschaften, die sie für die genannten Zwecke sehr aussichtsreich erscheinen lassen.

Herr Ing. Stryckers wird Sie sogleich mit den günstigen Erfahrungen bekannt machen, die er mit dem DPA sammeln konnte. Ich möchte mich hier auf die Darstellung einiger spezieller Probleme beschränken, die der Einsatz von DPA auf forstlichen Kulturflächen stellt. Es handelt sich dabei um folgende Fragen :

1) Wie stark und wie lange wirkt DPA im Boden?
2) Wie tief dringt es in den Boden ein?
3) Schädigt es das Bodenleben?

(*) Bei den Versuchen wurde ein Na-Salz von DPA mit einem Wirkstoffgehalt (freie Säure) von 75% verwendet. Hierauf sind die Mengenangaben bezogen.

1. Die erste Frage, wie lange ein Herbizid im Boden wirksam bleibt, wird von den Herstellerfirmen in ihren Prospekten oft mit lapidarer Kürze beantwortet. Wenn man der Frage jedoch einmal genau nachgeht, zeigt sich, dass sie meist sehr schwer zu beantworten ist, weil viele Faktoren darauf Einfluss haben.

Zunächst kommt es darauf an, welcher Anteil des je Flächeneinheit aufgewendeten Wirkstoffs überhaupt in den Boden gelangt. In gewissem Umfang lässt sich dieser durch die Wahl der Ausbringungstechnik beeinflussen. Beim DPA handelt es sich um einen Stoff, der in ersten Linie von den oberirdischen Organen aufgenommen wird. Meine Versuche im Juni 1955 mit 2-4jährigen Kiefern, Fichten, Lärchen, Buchen und Eichen zeigten, dass die Wirkung allein auf die oberirdischen Organe gebrachter DPA-Mengen etwa doppelt so stark war und etwa dreimal so rasch verlief wie bei einer reinen Bodenbehandlung. (Der Boden war ein feinsandiger Lehm.) Man weiss aus der Literatur, dass auch bei anderen Pflanzen, z.B. bei den Monocotyledonen, die Wirkung in ähnlicher Weise verläuft. Es kommt also darauf an, das Mittel so auszubringen, dass die oberirdischen Organe der zu bekämpfenden Unkräuter gut benetzt sind; eine starke Benetzung des Bodens sollte jedoch vermieden werden. Die Verhältnisse liegen hier also ähnlich wie bei den Phenoxyessigsäurepräparaten, aber anders als etwa bei den Carbamaten oder dem CMU.

Das allmähliche Nachlassen der Wirkung von Herbiziden im Boden kommt durch 3 Vorgänge zustande : Die chemische Zersetzung, den mikrobiellen Abbau und die Auswaschung. Alle drei sind nicht nur bei den einzelnen Präparaten sehr verschieden, sondern sie hängen auch entscheidend von der Art des Bodens und den Witterungsbedingingen ab. Die Untersuchungen von Thiegs (3) weisen darauf hin, dass beim DPA im allgemeinen der mikrobielle Abbau wirkungsvoller ist als der rein chemische. Besonders interessant ist seine Feststellung, dass der mikrobielle Abbau einer zweiten Dosis von DPA, die dem Boden innerhalb weniger Monate verabfolgt wird, wesentlich rascher erfolgt als der der ersten Gabe. Es scheint demnach so, als ob es nach der ersten DPA-Gabe zu einer beträchtlichen Anreicherung der am Abbau beteiligten Mikroben im Boden gekommen sei. Um welche Arten von Boden-Lebewesen es sich dabei handelt, weiss man nicht. Die Geschwindigkeit des biologischen Abbaus und in gewissem Grade auch der chemischen Zersetzung sind von der Wärme und Feuchtigkeit des Bodens so sehr abhängig, dass die wenigen vorliegenden Versuchsergebnisse keine allgemeingültigen Aufschlüsse geben können. Ich möchte mich daher auf die Feststellung beschränken, dass die Wirkungsdauer des DPA wesentlich geringer ist als die vergleichbarer Wirkstoffmengen von CMU

und TCA. Das scheint besonders für schwere und humusreiche Böden zu gelten und hängt hier wohl mit dem rascheren mikrobiellen Abbau zusammen, nicht aber etwa mit einer stärkeren Auswaschung des Mittels in diesen Böden.

2. Die Auswaschung ist abhängig von der bei der Ausbringung des Mittels verwendeten Wassermenge und den darauf folgenden Regenfällen, sowie von der Absorption des Mittels im Boden. Sandige, humusarme Böden sorbieren organische Herbizide nicht stark und lassen sie schon mit verhältnissmässig geringen Wassermengen bald in den Untergrund verschwinden. Die wegen ihrer starken Graswüchsigkeit für die Behandlung mit DPA hauptsächlich in Frage kommenden lehmigen und humosen Böden haben dagegen eine erstaunlich hohe Sorptionskraft für diesen Wirkstoff. Zur Untersuchung dieser Fragen habe ich mich der von H a r t l e y und P a r k (2) empfohlenen biologischen Testmethode bedient, für die Dipl. Forstwirt W a g n e r in unserem Institut geeignete Perkolatoren konstruiert hat.

Es handelt sich dabei um 20 cm hohe Zylinder mit einem Durchmesser von 12 cm, die aus zwei gleichartigen Halbzylindern zusammengesetzt sind. In diese Zylinder wird der zu untersuchende Boden eingefüllt und auf die Oberseite das Herbizid aufgebracht. Durch späteres Nachgiessen von Wasser kann man die Wirkung von Regenfällen nachahmen. Zur Untersuchung werden die Zylinder in ihre beiden Hälften auseinandergenommen; auf die dadurch entstandenen Bodenflächen sät man eine Testpflanze, z.B. Avena, aus. Wenn die Keimung dieser Pflanze auf der ganzen Fläche schlechter verläuft als in den unbehandelten Kontrollen, ist das ein Zeichen für eine gleichmässige Sorption des Mittels in der ganzen Bodensäule. Ist dagegen die Keimung nur stellenweise behindert, so liegt hier eine stärkere Sorption des Präparates vor.

Beim DPA zeigte sich, dass in Böden mit einem hohen Lehm- und Humusanteil das Mittel dei Aufwandmengen von 10-40 kg/ha auch bei hohen nachfolgenden Niederschlägen fast vollständig in den obersten 6-8 cm sorbiert wird.

Wenn man den Zylinder mit einem Kompostboden füllt, und dann 100 ccm einer 1% igen DPA-Lösung hindurchlaufen lässt, also die enorme Menge von 500 kg/ha DPA anwendet, bleibt fast der ganze Wirkstoff in den obersten 12 cm, während in 20 cm Tiefe die Keimung nicht mehr merkbar beeinträchtigt ist. Wenn man das Gleiche mit einem Sandboden macht, erhält man in der ganzen Tiefe der Bodensäule keine Keimung, ein Zeichen dafür, dass der Wirkstoff sich auf alle Schichten der Bodensäule verteilt hat; d.h. es findet keine starke Sorption in den oberen Bodenschichten statt. Das gibt wichtige Hinweise für die praktische Anwendung des DPA, wenn auch davor gewarnt werden muss, derartige Laborergebnisse unmittelbar in die Praxis zu übertragen. Ein heikler Punkt bei der sonst sicher zweckmässigen Versuchsanordnung ist nämlich die Tatsache, dass man es hier mit einem künstlich eingeschichteten Boden zu tun hat, während sich ein natürlich gewachsener Boden vielfach anders verhalten kann.

3. Ein Vorwurf, der den Herbiziden oft gemacht wird, ist ihre möglicherweise schädigende Einwirkung auf die Lebewesen des Bodens. Zur Untersuchung dieser Fragen bieten sich zwei Wege an : Die direkte Untersuchung der Bodenlebewesen nach einer Herbizidbehandlung, z.B. das Zählen lebender und toter Bakterien in Bodenproben oder die Messung physiologischer Leistungen der Lebewesen in Böden mit und ohne Herbizidbehandlung. Ich bin diesen indirekten Weg der Untersuchung gegangen, weil er meines Erachtens verhältnismässig leicht zu den Ergebnissen führt, die den Praktiker interessieren. Zu diesem Zweck wurden miteinander verglichen :

a) Die CO_2-Ausscheidung (Bodenatmung) behandelter und unbehandelter Bodenproben.

b) Die Ammoniak- und Nitratbildung behandelter und unbehandelter Bodenproben.

Bei der Bestimmung der Bodenatmung wird bisweilen der Fehler gemacht, die Kohlensäurebildung aus dem Boden in geschlossenen Gefässen zu messen. Das ergibt falsche Werte, weil die unnatürliche Kohlensäureanreicherung über dem Boden zu einer Hemmung der Bodenatmung führt. Man muss vielmehr die gebildete Kohlensäure ständig abführen, die Untersuchungsgefässe also unter einem kontinuierlichen Luftstrom halten, wie dies bei der von Floyd-Heck (1) entwickelten Apparatur geschieht. Bei diesen Untersuchungen ergab sich, dass Mengen von 10-100 kg DPA je ha in 1000 l Wasser aufgebracht selbst in den ersten Tagen nach der Behandlung des Bodens keinen Einfluss auf die Bodenatmung haben. Die Kohlensäureausscheidung betrug in allen Fällen bei einem humosen sandigen Lehmboden täglich etwa 40 mg, bei einem Kompost etwa 100 mg.

Die Ammoniak- und Nitratbildung wurde an Lagerproben (4 Wochen bei 18° C) bestimmt. Die Untersuchung ergab, dass sowohl die Ammoniak- wie auch die Nitratbildung durch Zugabe von 10 und 50 kg DPA je ha nicht beeinträchtigt wird.

Einwirkung von DPA auf die Ammoniak- und Nitratbildung in verschiedenen Böden

Bodenart	Behandlung	In 4 Wochen wurden gebildet (mg je 100 g Trockensubstanz des Bodens)	
		Ammoniakstickst.	Nitratstickst.
Min. Bod.	unbeh.	0,8	0,75
	10 kg DPA	0,8	0,75
	50 kg DPA	1,0	0,65
Kompost	unbeh.	10,0	79,6
	10 kg DPA	8,0	88,1
	50 kg DPA	10,0	90,6

Die geringen Schwankungen der durch Parallelen gesichterten Analysenwerte, die zwischen behandelten und unbehandelten Böden auftreten, dürften innerhalb der Fehlergrenzen liegen.

Es lässt sich also daraus schliessen, dass die Behandlung des Bodens mit DPA selbst bei sehr beträchtlichen Aufwandmengen zu keinerlei Störung der Tätigkeit der Boden-Lebewesen führt.

Die 2,2-Dichlorpropionsäure zeigt also eine Reihe von Eigenschaften, die sie als Herbizid für verschiedene Zwecke sehr geeignet erscheinen lassen.

LITERATUR

1. FLOYD HECK, A. — A methode for the Determination of total Carbon and also for the Estimation of Carbon Dioxide evolved from soils. *Soil Science* 17, 1929.
2. HARTLEY, G.s. and PARK, P. O. — Proc. Brit. Weed Contr. Conf. 1954 (41), 1.
3. THIEGS, B. J. — The stability of Dalapon in soils. *Down to Earth* 11, 1955 (1).

DE WERKING VAN DNC VIA DE GROND

door

P. Riepma Kzn

Inleiding

Nu steeds meer nieuwe middelen toepassing vinden in land- en tuinbouw, is het dienstig zich af te vragen, wat het lot van al deze verbindingen in de grond zal zijn en of herhaalde toepassingen van hoge doseringen op de duur niet schadelijk zullen zijn voor de land- en tuinbouwgewassen.

Deze vraag doet zich vooral voor ten aanzien van lang in de bodem nawerkende middelen, zoals arsenieten en CMU, alsmede t.a.v. die middelen, welke in hoge doseringen worden toegediend, zoals b.v. DNC bij het doodspsuiten van aardappelloof.

In verband met deze problemen is in 1954 begonnen met een biologisch onderzoek naar de nawerking van DNC in de grond volgens reeds eerder beschreven methodes (Riepma en Calissendorff, 1956).

Bij dit onderzoek is gebleken, dat de werking van de kleurstoffen via de bodem niet steeds toxisch behoeft te zijn, maar dat in verschillende gevallen een stimulering van de kieming, of ook van de groei kan optreden. Dit verschijnsel noopte tot een nader onderzoek. Proeven in petrischalen werden ingezet om de werking van zuivere DNC-oplossingen op kieming en wortelgroei na te gaan. Deze proeven werden in kiemthermostaten uitgevoerd bij 18-20° C.

De nawerkingsproeven

Om de nawerking van DNC in de grond te kunnen constateren, dient men te beschikken over een gevoelige testplant. Deze werd gevonden in tuinkers (Lepidium sativum). Het bleek nl. dat, wanneer 1.25 kg/ha DNC aan de grond werd toegevoegd, de kieming van tuinkers aanzienlijk werd geremd (tabel 1).

TABEL I

De invloed van verschillende concentraties DNC, toegevoegd aan de grond, op de kieming van tuinkers

kg/ha actieve stof DNC	% kieming t.o.v. onbehandeld
0	100
1.25	63
2.5	63
5.0	37
10.0	5,3

Uit deze gegevens blijkt wel, dat tuinkers tijdens de kieming zeer gevoelig is voor DNC. Op grond van tabel I mogen we dus aannemen, dat, wanneer er geen remming van de kieming meer optreedt, de hoeveelheid DNC, die aan de grond is toegevoegd, kleiner is dan 1.0 kg/ha.

Vervolgens werd de nawerking nagegaan van verschillende hoeveelheden DNC in de grond. In tabel II vindt men de gegevens vermeld, die betrekking hebben op 50 kg/ha DNC op veenkoloniale grond met een vochtgehalte van 50%.

TABEL II

De nawerking van 50 kg/ha DNC in de grond, bepaald middels de kieming van tuinkers en de op verschillende tijdstippen nog aanwezige hoeveelheid DNC

Tijd van inzaai in weken na bodembehand. met DNC	Tijd van kiemingsbepaling in weken na de bodembehandeling	Geschatte tijd tussen bodembehandeling en opkomst v/h zaad in weken (t)	Kieming in % t.o.v. onbehandeld	Schatting v/d nog inde grond aanwezige hoeveelh. DNC in kg/ha (Zie tabel 1)
1	2	1.5	2.0	20
2	3	2.5	6.0	12
3	4	3.5	26.0	4.6
4	5	4.5	60.0	1.9
5	6	—	145.0	—
6	7	—	145.0	—

De tijd van inwerking (tijd tussen bodembehandeling en opkomst van het zaad) is niet precies aan te geven, omdat er enkele dagen verlopen tussen de inzaai en de opkomst der zaden. Deze laatstgenoemde periode werd in onze proeven geschat op een halve week.

Wanneer we aannemen, dat een zeker deel in elke periode verdwijnt overeenkomstig een eerstegraadsdifferentiaalvergelijking dan is de snelheid van verdwijning van DNC uit de grond, evenredig met de hoeveelheid, die in de grond is achtergebleven, of m.a.w. :

$$\frac{dx}{dt} = kx \qquad (1)$$

waarin :
x = de hoeveelheid in de grond na *t* weken
t = aangegeven omschrijving in weken (tabel II, kolom 3)

Integratie van vergelijking (1) geeft :

$$\log \frac{x_0}{x} = kt \qquad (2)$$

waarin :
x_0 = hoeveelheid DNC in de grond na 0 weken (beginconcentratie).

Wanneer we de waarden uit de kolommen 3 en 5 uit tabel II substitueren in vergelijking 2, dan vindt men voor de waarde van k : 0.281 ± 0.015.

Dit schijnt er dus op te wijzen, dat DNC volgens een eerstegraads differentiaal vergelijking wordt gedetoxificeerd en dat na 6 weken maar zeer weinig in de grond is achtergebleven.

Opgemerkt dient te worden, dat eenzelfde wijze van afbraak is geconstateerd t.a.v. DNBP, indien althans een concentratie van 25 kg/ha niet wordt overschreden. Dit wijst erop, dat bij te hoge concentraties DNBP wellicht bepaalde micro-organismen worden gedood, die bij geringere concentraties verantwoordelijk zijn voor de detoxificatie.

Dat in elk geval van uitspoeling weinig sprake kan zijn, volgt uit tabel III, waarin de toxiciteit van verschillende over de grond toegediende hoeveelheden DNC t.a.v. koolzaad is weergegeven voor gesteriliseerde en niet gesteriliseerde grond.

De bepalingen omtrent de ontwikkeling van koolzaad werden uitgevoerd 4 en 6 weken na bodembehandeling met DNC.

Bij vergelijking van kolom 2 en 4 van tabel III blijkt dat zelfs bij onmiddellijke inzaai reeds duidelijke verschillen optreden tussen gesteriliseerde en ongesteriliseerde grond. Men bedenke echter dat in het ene geval (kolom 2) blijkbaar in het geheel geen afbraak plaatsvond en in het andere geval wel (kolom 4) tussen tijd van inzaai en tijd van bepaling van ontwikkeling van het gewas.

Vergelijking van kolom 2 en 3 uit tabel III wijst erop, dat onder de omstandigheden waaronder de proef (en ook de andere proeven) werd uitgevoerd, geen of weinig uitspoeling optrad.

TABEL III

De ontwikkeling van koolzaad in gesteriliseerde en niet gesteriliseerde veenkoloniale grond na behandeling met DNC, waarbij het koolzaad 0 en 4 weken na de behandeling is ingezaaid

kg/ha DNC actieve stof	Ontwikkeling van koolzaadplanten in % van de planten in onbehandelde potten op 2 data na bodembehandeling			
	gesteriliseerde grond		niet gesteriliseerde grond	
	0 weken	4 weken	0 weken	4 weken
0	100	100	100	100
1,25	100	100	100	100
2,5	100	100	100	100
5	80	80	100	100
12,5	50	50	100	100
25	30	30	90	100
50	10	10	50	100

Zoals uit tabel II kan worden opgemaakt, veroorzaakt DNC in geringe concentraties, of eventueel een afbraakprodukt van DNC, een stimulering van de opkomst van tuinkerszaden. Ditzelfde verschijnsel is op klei- en zandgronden geconstateerd, ook t.a.v. vlas en gerst. Derhalve was de vraag gewettigd : hoe komt deze stimulering tot stand? Hierover zijn proeven genomen in petrischalen, waarbij de kieming van zaden en de wortelgroei onder invloed van verschillende concentraties DNC en DNBP werden nagegaan.

Kiemingsproeven

Per petrischaal werden 50 zaden van tuinkers te kiemen gelegd op 4 lagen filtreerpapier, waaraan 20 cc oplossing van DNC was toegevoegd, zodanig dat de zaden toch met lucht in aanraking kwamen. Na ± 7 dagen werd de kieming bepaald. Eenzelfde soort proef werd gedaan met zaden van boekweit. In geen der gevallen kon een stimulering van de kieming worden geconstateerd wanneer onder kieming van zaden wordt verstaan de vorming van spruit en wortel. De resultaten van twee dezer proeven zijn vermeld in tabel IV.

Ons bleek, dat een groot aantal zaden geen spruit vormde en derhalve niet als gekiemd zaad werd medegerekend, maar de zaadhuid werd wel doorbroken. De verdere ontwikkeling werd echter gestagneerd vanwege de gevoeligheid der wortels, die blijkbaar veel gevoeliger zijn dan de zaden als zodanig.

Ter aanvulling werden dan ook proeven genomen om de invloed van DNC op de wortelgroei vast te stellen.

TABEL IV

De invloed van verschillende concentraties NH_4-DNC op de kieming van zaden van tuinkers en boekweit

Concentraties NH_4-DNC Mol/l	Kieming in % t.o.v. onbehandeld	
	Tuinkers	Boekweit
0	100%	100%
10^{-6}	103%	101%
5.10^{-6}	102%	90%
10^{-5}	96%	96%
5.10^{-5}	37%	86%
10^{-4}	9%	64%

Proeven over wortelgroei

Bij deze proeven werden zaden van vlas 2 à 3 dagen voorgekiemd bij 20° C. Vervolgens werden per petrischaal 5 zaden met een uniforme wortellengte gelegd, waarna de toename in wortellengte werd bepaald bij verschillende concentraties DNC. Als testobject werd vlas gebruikt omdat de jonge wortel van dit gewas gemakkelijk te meten is. Soortgelijke proeven werden ook uitgevoerd met NH_4-DNBP. De resultaten zijn weergegeven in tabel V.

TABEL V

De invloed van DNC en DNBP-ammoniumzouten op de lengtegroei van vlaswortels

Conc. middel in Mol.	Lengtetoename in 3 dagen van vlaswortels onder invloed van			
	DNC		DNBP	
	mm	% t.o.v. controle	mm	% t.o.v. controle
0	151.4	100	156.8	100
10^{-5}	247.8	164	305.0	195
2.10^{-5}	238.0	157	90.6	58
5.10^{-5}	181.6	120	77.8	50.3
10^{-4}	6.5	4.3	—	—
2.10^{-4}	<0	—	—	—

In andere proeven, ingezet om dit verschijnsel te controleren, werd eveneens gevonden, dat deze verbindingen de wortelgroei

van vlas stimuleerden. Vermoedelijk heeft men hier te maken met strekkingsgroei. Er is nl. geconstateerd, dat DNC-concentraties in het traject van 5×10^{-7} tot 5×10^{-5} Mol. de wateropname van uienwortels doen toenemen, hetgeen gepaard gaat met een verhoogd zuurstofgebruik. (Lott and Rosene 1956). Deze verhoogde wateropname heeft vooral plaats in de strekkingszone, vlak achter de groeitop van de wortel. Dat deze verhoogde wateropname gepaard gaat met een toegenomen gebruik van O_2 wijst er blijkbaar op, dat organische stoffen in dit deel van de wortel worden verademd, en dat de celwanden elastischer blijven. Daardoor kan een vergrote wateropname gepaard gaan aan een grotere strekking van de wortel.

Nabeschouwing

Het is nu wel bekend, dat DNC in wintergranen op onkruidvrije velden een opbrengstverhoging kan bewerkstelligen van ± 10%. Omtrent de oorzaken van het verschijnsel tast men tot nu toe in het duister, al is wel bekend, dat er een correlatie bestaat met een vergroot oppervlak van de laatstgevormde bladeren, welker assimilatieprodukten vooral bijdragen tot de korrelvorming. Maar een correlatie vaststellen is nog niet het onderkennen van een causaal verband.

Nu is uit retentieproeven bekend, dat hoogstens 10% van de vloeistof door de bladeren van granen worden vastgehouden per eenheid van horizontaal oppervlak. Wanneer gespoten wordt op onkruidvrije velden in granen met 4 bladeren, komt dus zeker 90-100% van de spuitvloeistof op de grond terecht. Een gedeelte van de hoeveelheid actieve stof zal nu uitspoelen en in de wortelzone terechtkomen. Wanneer we in het jeugdstadium van de granen de wortelzone een dikte van ± 10 cm toekennen, dan betekent dit dat bij een vochtgehalte van 20% van de grond, de concentratie van de DNC in het bodemvocht schommelt tussen 10^{-4} tot 10^{-6} Molair. En dit is juist het concentratietraject, dat een vergrote strekkingsgroei van de wortel kan bewerkstelligen en juist op een moment, dat de bovengrondse delen lijden onder de werking van het contactherbicide. Uiteraard is de periode, waarin een stimulering van de wortelgroei optreedt, maar kort, maar desondanks zou ze er toe kunnen bijdragen om in een latere periode de spruitproduktie te vergroten doordat het oppervlak, waardoor water en voedingszouten naar binnen kunnen treden, is toegenomen. Wanneer men vrij hoge concentraties DNC door de grond mengt, in deze behandelde grond gerst plant en het vers-gewicht nagaat en de verdamping, dan blijkt, dat deze na verloop van tijd groter zijn dan die van onbehandeld, hetgeen vooral in het laatste gedeelte der proefperiode tot uiting komt,

wanneer de DNC grotendeels is afgebroken. Een toename van het vers-gewicht van de spruit dus, gepaard gaande met een toename van de verdamping onder invloed van DNC, welke alleen via de bodem werkzaam is.

Conclusies

1. DNC en DNBP kunnen een toxische werking via de bodem uitoefenen. Hoe lang deze toxische werking duurt, is afhankelijk van de dosering dezer middelen.
2. De afbraak van de genoemde kleurstoffen moet waarschijnlijk aan een micro-organisme worden toegeschreven. Te hoge doseringen van deze kleurstoffen steriliseren de grond, blijkbaar wordt dan de critische concentratie overschreden, beneden welke een nog niet gedefinieerd micro-organisme de verbindingen kan afbreken.
3. Gebleken is, dat de kieming van tuinkerszaden een gevoelige methodiek is voor het nagaan van de detoxificatiesnelheid van kleurstoffen in de bodem.
4. De afbraak van DNC in de grond schijnt te gebeuren volgens een eerstegraads differentiaal vergelijking.
5. In de grond kan DNC blijkbaar de kieming of althans de opkomst van tuinkers stimuleren. In petrischalen bleek deze verbinding de kieming echter niet te stimuleren, maar wel de wortelgroei bij bepaalde concentraties. Dezelfde concenrtaties bevorderen blijkens literatuurgegevens de wateropname en het zuurstofgebruik.

SUMMARY

The action of DNC in the soil

1. According to biological tests, using Lepidium sativum as a test plant, DNC and DNPB are rapidly broken down in the soil. When using concentrations above a critical level break down, however, is slow. Apparently some microorganisms, responsible for the breakdown of lower concentrations of these dyestuffs, themselves are destroyed. The result is a sterilised soil, in which no seeds can germinate.
2. It is observed, that emergence of seedlings of Lepidium sativum is stimulated in soil with very low concentrations of DNC. Germination tests in petri-dishes, however, revealed that low concentrations of DNC or DNBP did not stimulate germination. Possibly the stimulation of emergence should be ascribed to a product to which DNC is broken down.
3. However, low concentrations DNC and DNBP stimulate the growth of roots of fiberflax. DNC applied to the soil stimulates the vegetative growth and evaporation of barley.

LITERATUUR

1. LOTT, J. R. and ROSENE, H. F. — Effects of 4.6 dinitro-o-cresol on water-influx and oxygen-uptake of excised onion roots. *Am. J. Bot.* **43** (1956), p. 69-72.

2. RIEPMA Kzn, P. en CALISSENDORFF, C. — De nawerking van DNC in de grond. Landbouwvoorlichting (in druk).

J. Stryckers, Gent

V : Bieten pre-emergence 5 kg/ha DNC am. bij droge voorjaar 1956 blijkbaar min gevaarlijk — op vlas wel!

A : De zo juist beschreven proeven zijn genomen bij een watergehalte van de veenkoloniale grond van 45%. Daardoor konden de microorganismen zich goed ontwikkelen. Komt echter DNC op een erg droge grond terecht, zoals in het voorjaar het geval kan zijn, dan wordt deze verbinding niet zo snel afgebroken en uitgeloogd. Stroomt vochtige licht langs een met DNC behandelde grond, dan kan deze DNC van de grond opnemen. Nu is de temperatuur van de grond hoger dan die van de plant. De vochtige lucht kan zich dus op de plant afzetten (de plant kan beschouwd worden als een natte bol-thermometer) en de daarin aanwezige DNC zou schade kunnen veroorzaken. In hoeverre dit gevaarlijk is voor elk gewas afzonderlijk is moeilijk van te voren te voorspellen.

M. J. Zwijns, Maarssen

V : Hoe lange tijd verloopt tussen spuiten van DNC en moment, dat DNC wortel bereikt?

A : De mate van uitspoeling is vnl. afhankelijk van bodem gesteldheid en neerslag. Bij een neerslag van 2 cm en een poriënvolume van 33% kan DNC theoretisch tot 6 cm diepte uitspoelen. Uiteraard is op deze diepte de hoeveelheid DNC dan maar een gering percentage van de oorspronkelijk toegediende hoeveelheid.

A. Van den Akker, Gent

V : Hoe lang is de nawerking i.v.m. de pre-emergence behandeling in bv. bieten en vlas?

A : Wanneer 5 kg/ha DNC pre-emergence wordt toegepast, is de nawerking Œ 3 à 4 weken onder optimale vochtcondities van de grond. Onder droge omstandigheden kan de nawerking langer zijn. Of men in de praktijk hiervan veel zal merken hangt samen met de resistentie der gewassen, de mate van uitspoeling en factoren, genoemd onder nr 1.

M. J. Veenhof, Deventer

V : 1) Doel van onderzoek was, na te gaan de invloed van DNC op gewassen welke volgden na doodspuiten van aardappelen. Wat is uw conclusie hierover?
2) Is het mogelijk na te gaan of oogstvermeerdering tv. DNC samenhangt met stimulering van de wortelgroei, en in verband hiermede het verschillende gedrag der granen door bepaling van de grootte van het wortelgestel na een bespuiting in het goede stadium t.o.v. onbehandeld.

A : 1) Gevoelige gewassen zijn o.a. stoppelknollen en koolzaad. Het is niet uitgesloten, dat wanneer men hoge doseringen DNC gebruikt voor het doodspuiten van aardappelloof, deze hoeveelheden nog invloed zullen uitoefenen op een 4 à 6 weken later ingezaaid gewas.
2) In het veld is dit zeer moeilijk na te gaan in verband met wortelverliezen, die optreden bij het afspoelen van de grond. Een ± 6 jaar geleden verricht voorlopig onderzoek heeft geen resultaten opgeleverd.

QUELQUES ACQUISITIONS DANS LE DOMAINE DU CONTROLE DE LA VEGETATION AQUATIQUE

par

A. Michiels et A. Dustin

Introduction

Le contrôle et la destruction de la végétation aquatique posent de graves problèmes aux pisciculteurs et aux personnes ayant à charge l'entretien d'étangs, de cours d'eau, de canaux de drainage et d'irrigation.

Jusqu'à présent, on a utilisé presque exclusivement des moyens mécaniques (1, 2, 3, 4). Ils permettent, au prix de travaux pénibles et répétés joints à une vigilance constante, de conserver aux pièces d'eau un rendement et un aspect satisfaisants. Dans certains cas où les hauteurs d'eau sont insuffisantes, les opérations sont très difficiles, voire irréalisables ou incompatibles avec les buts économiques poursuivis.

Depuis quelques années, les recherches se sont orientées vers la mise en œuvre des moyens fournis par l'arsenal de la phytopharmacie. L'emploi d'herbicides ayant permis de résoudre de nombreux problèmes agricoles, il était logique de chercher à se servir de ces produits pour lutter contre la végétation aquatique. (5, 6, 7, 8, 9).

Dans une publication récente, Mr J. A. Timmermans (4) de la Station de Recherches Forestières de Groenendaal, a fait une excellente mise au point de la question telle qu'elle se présentait au début de 1955. Les conclusions auxquelles il aboutit sont voisines des nôtres, quoique nos essais respectifs aient été menés séparément.

Les seuls résultats importants ont été acquis par l'emploi d'hormones 2,4-D et 2,4-D amine, de Benochlor et d'Arsénite de soude.

Le plantain d'eau (Alisma plantago), la sagittaire (Sagittaria sagittifolia) et dans une certaine mesure, la renouée aquatique (Polygonum amphibium) sont détruits par une application en juin ou juillet de 10 l/Ha de 2,4-D amine.

Le Benochlor et l'Arsénite de soude sont actifs sur quelques espèces immergées, comme Ceratophyllum demersum, la renoncule aquatique (Ranunculus aquatilis), les prêles (Equisetum limosum et palustre). Mais ces produits ne peuvent être utilisés dans les eaux peuplées de poissons à cause de leur très grande toxicité.

But de nos essais

Nous sommes intervenus dans ce domaine, à la demande de Mr Paul Mathieu qui a bien voulu mettre ses installations à notre disposition, et nous a fait bénéficier de sa longue expérience en la matière (5), en nous initiant aux particularités du problème. Nous tenons à le remercier vivement de l'aide précieuse qu'il n'a cessé de nous apporter.

Nos buts étaient de deux ordres :

a) L'apparition sur le marché de nouveaux produits particulièrement actifs vis-à-vis des graminées, le C.M.U. et le Dalapon, nous a incités à étudier leur action contre les grandes monocotylédones aquatiques, dont la destruction constitue un des principaux problèmes. Nous pouvions, en cas de succès, espérer étendre le champ d'application de ces produits.

b) Disposant d'une gamme assez complète des herbicides actuellement connus, nous avons jugé intéressant d'examiner leur actvité sur les expèces présentes dans les installations de Mr Mathieu à Maransart. Mr Mathieu a bien voulu, en outre, attirer notre attention sur un certain nombre d'autres problèmes importants n'ayant pas reçu de solution satisfaisante jusqu'à présent, tels la destruction des potamots (Potamogeton natans et crispus), des prêles (Equisetum limosum et palustre), des Nymphecacées (Nénuphars).

Essais effectués et résultats obtenus

Les doses utilisées avec les divers produits ont été fixées soit par des conditions économiques, soit par des données acquises dans d'autres domaines d'application.

Nos essais ont été divisés en deux catégories :

1) Destruction des grandes monocotylédones, Roseaux (Phragmites communis), Massettes (Typha latifolia), Laîches (Carex acutiformis).

2) Destruction d'autres espèces nuisibles.

Les produits suivants ont été expérimentés :

3,(p-chlorphényl)1,1-diméthylurée — C.M.U.
3,4-dichlorphényl-1,1-diméthylurée **C.M.U.** (dérivé dichloré)
Trichloracétate de sodium **T.C.A.**
2,2-dichlorpropionate de sodium **DALAPON**
ester amylique de l'acide 2,4,5-trichlorphenoxyacétique
2,4,5-T ester amylique
butyléther ester de l'acide 2,4,5-trichlorphénoxypropionique
2,4,5-TP butyléther ester
isooctylester de l'acide 2,4,5-trichlorphénoxypropionique
2,4,5-TP isooctylester

2,4,5-trichlorphénoxyéthylsulfate de sodium	**2,4,5-TES**
amine de l'acide 2,4-dichlorphénoxyacétique	**2,4-D amine**
2,4-dichlorphénoxyéthylbenzoate de sodium	**2,4-DB**
2,méthyl-4,chlorophénoxyacétate de sodium	**M.C.P.A.**
hydrazide maléïque (sel sodique)	**M H 40**
3,6-endoxohexahydrophtalate de sodium	**Endothal**
acide N-1 naphtylphtalamic	**ANALAP**
dichloralurée	**D.C.U.**
3-amino-1,2,4-triazole	**AMINOTRIAZOLE**
sulfamate d'ammonium	

chloro-isopropylphénylcarbamate **C.I.P.C.** ou **Cloro I.P.C.**

I. Traitement des grandes Monocotylédones Aquatiques

Nos essais ont porté sur :

Massettes	Typha latifolia
Roseaux	Phragmites communis
Laîches	Carex acutiformis

Les produits suivants ont été utilisés :

C.M.U.	Sulfamate d'ammonium
DALAPON	M.C.P.A.
T.C.A.	C.I.P.C.
2,4-D amine	C.M.U. dichloré

Les traitements ont été réalisés au moyen d'un petit pulvérisateur à moteur, à la pression de ± 7 kg/cm², muni d'une lance à jet oblique donnant des gouttelettes très fines. Quantité de liquide pulvérisée : 1.000 L/Ha.

Les résultats sont résumés dans les tableaux I, II et III.

Discussion des résultats

1. — Sur Typha.

Les meilleurs résultats ont été obtenus avec 20 à 25 kg/Ha de *Dalapon*. additionné ou non de 2,4-D amine, appliqué en juin et août. Le traitement du 16 mai a été un peu moins efficace, probablement à cause de la pluie qui est tombée pendant le traitement. Il semble que ce produit puisse encore être avantageusement pulvérisé jusqu'en septembre. Il faut environ six semaines pour

que les plantes soient complètement fanées quoique les effets se marquent endéans les huit jours du traitement. L'action est plus rapide en présence de 2,4-D amine.

D'autre part, l'emploi de M.C.P.A. à forte dose, 25 ou 50 L/Ha, pourrait s'avérer intéressant.

Nous avons aussi obtenu une bonne destruction du Typha latifolia au moyen de 150 kg/Ha de T.C.A. ou 300 kg/Ha de Sulfamate appliqués le 15 septembre. Mais ces traitements sont économiquement prohibitifs. Avec 75 kg/Ha de T.C.A. les résultats ne sont pas réguliers.

Le C.M.U., le Chloro I.P.C. ne paraissent pas avoir d'action suffisante aux doses utilisées de même que la dichlorophényl diméthylurée et l'aminotriazole.

2. — Sur Phragmites communis.

Résultats semblables à ceux obtenus sur Typha.

Le T.C.A. à 150 kg/Ha et le sulfamate d'ammonium à 200 kg/Ha sont efficaces mais le prix du traitement est beaucoup trop élevé.

Le Chloro I.P.C. n'a pas d'action et le C.M.U. est trop peu actif aux doses employées.

Ici encore, le Dalapon à 20 ou 25 kg/Ha, seul ou additionné de 2,4-D amine provoque la destruction totale. S'il pleut au moment de l'application et si les roseaux ont leurs pieds dans l'eau, la dose doit être augmentée. On a également avantage à inclure un bon adhésif dans le mélange.

3. — Sur Carex acutiformis.

Seul le Dalapon à 25 kg/Ha, seul ou avec 7 L de 2,4-D amine, appliqué très tôt dans la saison, jusqu'au début juin au plus tard, nous a permis de détruire ce carex. Aucun des autres produits testés n'a eu d'action aux doses utilisées.

Si nous résumons les résultats obtenus sur ces trois espèces, (voir tableau IV) nous constatons que :

Le T.C.A. à 150 kg/Ha détruit les Typha et les Phragmites mais ne semble pas avoir d'action suffisante sur les Carex.

Le Sulfamate d'ammonium tue les Phragmites à 200 kg/Ha, les Typha à 300 kg/Ha mais pas les Carex.

Le Dalapon à 25 kg/Ha détruit les Typha et les Phragmites pendant toute la saison végétative. Une dose de 20 kg/Ha pourrait être suffisante dans certains cas. Les Carex sont également très sensibles à ce traitement mais seulement jusqu'en juin, qui correspond à la période de floraison. Les Phragmites et les Typha sont aussi les plus vulnérables à cette époque de l'année.

L'addition de 7 L de 2,4-D amine augmente la rapidité d'action du Dalapon.

Tableau des traitements sur Typha latifolia

Produits	Quantité/Ha	Date	Situation du pied	Météorologie	Résultats obtenus
CMU	20 kg	16/4/54	à sec	beau, froid et sec	Peu de repousses la même année, diminution de densité l'année suivante.
CMU	10 kg	16/4/54	à sec	idem	Insuffisant.
2,4–D amine + TCA	10 L + 75 kg	6/7/54	sous eau	très pluvieux et frais	Destruction temporaire, repousses denses l'année suivante.
CMU	10 kg	1/9/54	sous eau	beau et chaud	Bonne destruction apparente, quelques repousses au printemps.
CMU	10 kg	1/9/54	sous eau	idem	Pas d'action.
Sulfamate/NH_4	*300 kg*	*15/9/54*	*sous eau*	*vent fort, pluvieux*	*Bonne destruction; 5% de repousses après un an.*
CMU	10 kg	15/9/54	sous eau	idem	Pas d'action.
TCA	*150 kg*	*15/9/54*	*sous eau*	*idem*	*Pas de repousses après un an.*
CIPC 25%	100 L	15/9/54	sous eau	vent fort, pluvieux	Légère action, repousses après un an.
CMU	5 kg	16/5/55	à sec	pluies intermittentes	Pas d'action.
CMU	5 kg	16/5/55	sous eau	idem	idem.
Dalapon	25 kg	16/5/55	sous eau	idem	Action assez bonne, repousses en fin de saison.
Dalapon + 2,4–D amine	25 kg + 7 L	16/5/55	sous eau	idem	Bonne action, quelques repousses en fin de saison.
TCA	75 kg	16/5/55	sous eau	idem	Faible action temporaire, repousses en juillet.
Dalapon	25 kg	2/6/55	sous eau	beau et chaud	Très bonne action, quelques faibles pousses en fin de saison.
Dalapon (1)	*25 kg*	*2/6/55*	*sous eau*	*idem*	*Destruction complète – pourriture des racines.*
Dalapon + 2,4–D amine (1)	*25 kg + 7 L*	*2/6/55*	*sous eau*	*idem*	*Destruction complète plus rapide, pas de repousse en avril 1956.*
CIPC 25% émulsion	100 L	2/6/55	sous eau	idem	Pas d'action.
Dalapon + 2,4,5–TP. butyl ester	5 kg + 5 L	3/6/55	sous eau	idem	Arrêt de croissance.
CMU dérivé dichloré	30 kg	3/6/55	sous eau	idem	Pas d'action.
Dalapon	*20 kg*	*4/8/55*	*sous eau*	*idem*	*Destruction complète.*
Dalapon + 2,4–D amine	*20 kg + 7 L*	*4/8/55*	*sous eau*	*idem*	*Destruction complète plus rapide. Pas de repousses en avril 1956.*
Aminotriazole	20 kg	20/9/55	sous eau	idem	Pas d'action apparente.
Dalapon	20 kg	20/9/55	sous eau	idem	90% de nécroses en octobre.
MCPA 30	50 L	20/9/55	sous eau	idem	Complètement nécrosés en octobre.
MCPA 30	25 L	20/9/55	sous eau	idem	Complètement nécrosés en octobre.
2,4–D amine	25 L	20/9/55	sous eau	idem	50% de nécroses en octobre.

(1) Avec addition d'adhésif.

TABLEAU II

Tableau des traitements sur Phragmites communis

Produits	Quantité/Ha	Date	Situation du pied	Météorologie	Résultats obtenus
CMU	10 kg	16/4/54	à sec	beau, froid et sec	Action insuffisante.
TCA + 2,4–D amine	75 kg + 10 L	6/7/54	sous eau	très pluvieux et frais	Destruction temporaire, repousses dense l'année suivante.
2,4–D amine	10 L	6/7/54	sous eau	très pluvieux et frais	Pas d'action.
TCA	*150 kg*	*15/9/54*	*sous eau*	*vent fort, pluvieux*	*Pas de repousses 1 an après traitement.*
Sulfamate/NH_4	*300 kg*	*15/9/54*	*sous eau*	*vent fort, pluvieux*	*Pas de repousses 1 an après traitement.*
CIPC 25% émulsion	100 L	15/9/54	sous eau	vent fort, pluvieux	Pas d'action.
CMU	10 kg	15/9/54	sous eau	vent fort, pluvieux	Pas d'action.
CMU	10 kg	1/9/54	à sec	beau et chaud	Bonne action immédiate, repousses nombreuses l'année suivante.
CMU	10 kg	1/9/54	à sec	beau et chaud	Idem.
CMU	10 kg	1/9/54	sous eau	beau et chaud	Peu d'action.
CMU	5 kg	16/5/55	à sec	pluies intermittentes	Pas d'action.
CMU	5 kg	16/5/55	sous eau	idem	Pas d'action.
CMU	10 kg	16/5/55	sur berge	idem	Pas de résultats.
CMU	10 kg	16/5/55	sous eau	idem	Pas de résultats.
Dalapon	*25 kg*	*17/5/55*	*à sec*	*idem*	*Destruction lente mais totale. Pas de repousses en 1955.*
Dalapon	*50 kg*	*17/5/55*	*à sec*	*idem*	*Destruction plus rapide et totale. Pas de repousses en 1955.*
Dalapon	25 kg	17/5/55	sous eau	idem	Faibles résultats.
Dalapon	*50 kg*	*17/5/55*	*sous eau*	*idem*	*Bons résultats.*
Sulfamate/NH_4	*200 kg*	*17/5/55*	*à sec*	*idem*	*Pas d'action pendant 3 mois puis destruction lente et totale. Pas de repousses en 1955.*
Sulfamate/NH_4	*400 kg*	*17/5/55*	*à sec*	*idem*	*Pas d'action pendant 2 mois puis destruction totale. Plus de repousses en 1955.*
CIPC 25% émulsion	25 L	17/5/55	à sec	idem	Aucune action.
CICP 25% émulsion	50 L	17/5/55	à sec	idem	idem.
CIPC 25% émulsion	75 L	17/5/55	à sec	idem	idem.
Dalapon	*20 kg*	*4/8/55*	*à sec*	*beau et chaud*	*Bonne destruction dès mi-septembre.*
Dalapon + 2,4–D amine (1)	*20 kg + 7 L*	*4/8/55*	*à sec*	*idem*	*Destruction rapide.*
Dalapon + 2,4–D amine	*20 kg + 7 L*	*4/8/55*	*sous eau*	*idem*	*Destruction rapide.*
Dalapon	20 kg	20/9/55	à sec	idem	90% de nécroses en octobre.

TABLEAU III

Tableau des traitements sur Carex acutiformis

Produits	Quantité/Ha	Date	Situation du pied	Météorologie	Résultats obtenus
CMU	10 kg	1/9/54	à sec	beau et chaud	Pas d'action.
Sulfamate/NH_4	300 kg	15/9/54	sous eau	pluvieux et frais	50% de repousses 1 an après traitement.
TCA	150 kg	15/9/54	sous eau	idem	25% de repousses 1 an après traitement.
CIPC 25% émulsion	100 L	15/9/54	sous eau	idem	Pas d'action.
CMU	10 kg	15/9/54	sous eau	idem	Pas d'action.
Dalapon	*25 kg*	*16/5/55*	*à sec*	*pluies intermittentes*	*Destruction totale.*
Dalapon	*50 kg*	*16/5/55*	*à sec*	*idem*	*idem.*
CMU	10 kg	17/5/55	à sec	idem	Très faible action.
Dalapon	25 kg	2/6/55	sous eau	beau et chaud	Bonne action. La plupart des plantes sont desséchées mais il reste quelques pousses vertes.
Dalapon + 2,4–D amine (1)	*25 kg + 7 L*	*2/6/55*	*sous eau*	*idem*	*Destruction totale.*
Dalapon (1)	25 kg	2/6/55	à sec	idem	Bonne action. La plupart des plantes sont desséchées mais il reste quelques pousses vertes.
CMU dérivé dichloré	30 kg	2/6/55	à sec	idem	Pas d'action.
Dalapon	20 kg	4/8/55	à sec	idem	idem.
Dalapon + 2,4–D amine (1)	20 kg + 7 L	4/8/55	à sec	idem	idem.
Dalapon	20 kg	20/9/55	à sec	idem	idem.
MCPA 30	50 L	20/9/55	à sec	idem	idem.
MCPA 30	25 L	20/9/55	à sec	idem	idem.
2,4–D amine	25 L	20/9/55	à sec	idem	idem.

(1) Avec addition d'adhésif.

TABLEAU IV

Résultats positifs obtenus sur quelques grandes monocotylédones aquatiques

Produits	Quantité/Ha	Date	Situation du pied	Météorologie	Effets des traitements		
					Typha	Phragmites	Carex
TCA	150 kg	15/9/54	sous eau	vent fort, pluvieux	+	++	±
Sulfamate NH_4	300 kg	15/9/54	sous eau	idem	++	++	±
Dalapon + 2,4 D amine	25 kg + 7 L	16/5/55	à sec	pluies intermittentes		++	++
Dalapon + 2,4-D amine	25 kg + 7 L	16/5/55	sous eau	idem	±		
Dalapon	25 kg	16 et	à sec	idem		++	++
		17/5/55	sous eau	idem	±	+	
Dalapon	50 kg	16 et	à sec	idem		++	++
		17/5/55	sous eau	idem		++	
Sulfamate NH_4	200 kg	17/5/55	à sec	idem		+	
Sulfamate NH_4	400 kg	17/5/55	à sec	idem		+	
Dalapon	25 kg	2/6/55	à sec	beau et chaud			+
			sous eau	idem	++		+
Dalapon + 2,4-D amine	25 kg + 7 L	2/6/55	sous eau	idem	++		++
Dalapon	20 kg	4/8/55	à sec	idem		++	0
			sous eau	idem	++		
Dalapon + 2,4-D amine	20 kg + 7 L	4/8/55	à sec	idem		++	0
			sous eau	idem	++	++	
Dalapon	20 kg	20/9/55	à sec	idem		±	0
			sous eau	idem	+		

Légende :
- o Pas d'action
- ± Action faible
- \+ Destruction complète des parties aériennes, quelques repousses dans la saison.
- ++ Destruction totale des parties aériennes et souterraines.

Il est donc possible de détruire trois des principales espèces nuisibles par une application de 25 kg/Ha de Dalapon en mai ou début juin.

Les plantes situées dans les étangs sous eau accusent les mêmes réactions que celles poussant en terrain humide ou sur la berge. Cependant, les conditions de climat jouent un plus grand rôle lorsque ces plantes ont leur pied dans l'eau. Dans ce cas, une pluie survenant pendant ou peu de temps après le traitement entraîne le produit dans l'étang où il va se diluer et être ainsi perdu, alors que s'il descend dans le sol, il peut encore agir par les racines.

Les effets du traitement sont d'autant plus rapides que la température est plus élevée.

II. Essais effectués sur d'autres plantes

Nos essais ont également porté sur d'autres problèmes considérés comme importants : les potamots (Potamogeton natans), les prêles (Equisetum limosim et palustre), les renouées aquatiques (Polygonum amphibium).

Tous les produits en notre possession et susceptibles, à priori, d'avoir une action sur ces espèces ont été essayés.

Les traitements ont été effectués suivant les possibilités, soit à sec, soit en étang sous eau. Même technique d'application que précédemment.

a) Contre Potamogeton natans

Des essais sur potamots ont été réalisés le 1er juin 1955 dans un étang à carpes à sec depuis l'automne 1954. Les potamots qui étaient uniformément distribués sur toute la surface traitée avaient 4 feuilles au moment du traitement. Les parcelles de 5 × 20 m comportaient aussi des renouées aquatiques. L'étang fut remis sous eau trois jours après la pulvérisation.

Aucun résultat satisfaisant n'a été enregistré.

Un deuxième train d'essais a été effectué le 3 juin 1955 sur une série de petits étangs sous eau dont la surface était complètement recouverte par les feuilles de potamots à l'exclusion de toute autre végétation. Aucun résultat.

Enfin le 30 août 1955 une troisième série d'essais n'eut pas plus d'action que les précédentes.

Il nous faut donc reconnaître que le Potamogeton natans est réfractaire à tous les produits testés, même lorsque ceux-ci sont additionnés de grandes quantités de mouillant.

Devant l'échec total des essais „in situ" nous avons repiqué des plantes dans des vases de végétation d'une contenance de

30 litres. Sur les nouvelles feuilles développées depuis le transfert des plantes dans les vases nous avons déposé, un mois plus tard, des gouttes d'un volume total de 1 cc des produits suivants :

2,4-D amine à 2%, 1%, 1‰, 1‱,
M.C.P.A. à 5%, 1%, 1‰,
ester amylique de 2,4,5-T à 2%, 1%, 1‰,
butyl ester de 2,4,5-T à 2%, 1%, 1‰.

Etant donné la nature cireuse de la surface foliaire, un puissant mouillant, à une concentration de 1‰, a été ajouté à chaque traitement. Trois répétitions par objet. Aucune action n'a été constatée.

b) Contre les prêles

Nous n'avons effectué qu'une seule série d'essais le 1er juin 1955 dans le même étang à carpes à sec. Parcelles de 5 × 20 m envahies de prêles d'environ 50 cm de hauteur, mélangées de sagittaires et de potamots, et remis sous eau 3 jours plus tard.

En un mois et demi, les prèles avaient disparu dans les parcelles traitées avec :

25 kg/Ha de Dalapon
10 kg/Ha de C.M.U.
et 5 L/Ha de 2,4,5-T.

Malheureusement, ils ont disparu également dans tout l'étang au cours du mois d'août. Aucune conclusion sérieuse ne peut donc être tirée de cet essai.

c) Contre Polygonum amphibium

Un certain nombre de produits récemment commercialisés ont été testés sur renouées (voir tableau VII).

Les traitements suivants se sont montrés efficaces, sur étang à sec :

En 1954
le C.M.U. à 20 kg/Ha
le sulfamate d'ammonium à 200 kg/Ha.
le mélange de 100 kg/Ha de sulfamate d'ammonium et de 5 kg/Ha de C.M.U.
le mélange de 50 kg/Ha de T.C.A. et de 2,5 L/Ha de 2,4,5-T. Cependant, ce même traitement appliqué 3 semaines plus tard a été un échec.

En 1955
Le Dalapon à 25 kg/Ha.

Traitement sur Potamogeton natans

Produits	Quantité/Ha	Situation du pied	Date	Météorologie	Résultats obtenus
Dalapon	25 kg	à sec (1)	1/6/55	beau et chaud	Action temporaire.
CMU	10 kg	à sec (1)	1/6/55	beau et chaud	Action nulle.
CMU	5 kg	à sec (1)	1/6/55	beau et chaud	Action nulle.
2,4,5–TES	10 kg	à sec (1)	1/6/55	beau et chaud	Légère activité – Forte repousse en septembre.
2,4,5–TES	5 kg	à sec (1)	1/6/55	beau et chaud	Action nulle.
2,4–DB	10 kg	à sec (1)	1/6/55	beau et chaud	Action nulle.
2,4–DB	5 kg	à sec (1)	1/6/55	beau et chaud	Action nulle.
2,4,5–TP (butylétherester)	3 L	à sec (1)	1/6/55	beau et chaud	Légère action – repousses en septembre.
2,4,5–TP (butylétherester)	5 L	à sec (1)	1/6/55	beau et chaud	Légère action – repousses en septembre.
2,4,5–T (ester amylique)	3 L	à sec (1)	1/6/55	beau et chaud	Assez bonne action, repousses en septembre.
MCPA	10 L	à sec (1)	1/6/55	beau et chaud	Action pratiquement nulle.
2,4–D amine	7 L	à sec (1)	1/6/55	beau et chaud	Action pratiquement nulle.
2,4–D amine	5 L	à sec (1)	1/6/55	beau et chaud	Action pratiquement nulle.
CMU	10 kg	sous eau	3/6/55	beau et chaud	Pas d'action.
2,4,5–TP (butylétherester)	5 L	sous eau	3/6/55	beau et chaud	Pas d'action.
2,4,5–T (ester amylique)	3 L	sous eau	3/6/55	beau et chaud	Pas d'action.
2,4,5–T (ester amylique) + TCA	3 L + 50 kg	sous eau	3/6/55	beau et chaud	Pas d'action.
2,4–D amine	7 L	sous eau	3/6/55	beau et chaud	Pas d'action.
MCPA	10 L	sous eau	3/6/55	beau et chaud	Pas d'action.
CMU (dérivé dichloré)	30 kg	sous eau	3/6/55	beau et chaud	Pas d'action.
Hydrazide maléïque	20 kg	sous eau	30/8/55	beau et chaud	Pas d'action.
Aminotriazole	8 kg	sous eau	30/8/55	beau et chaud	Faible action (?)
Aminotriazole	16 kg	sous eau	30/8/55	beau et chaud	Action apparemment meilleure qu'avec 8 kg.
Endothal	8 L	sous eau	30/8/55	beau et chaud	Pas d'action.
Endothal	16 L	sous eau	30/8/55	beau et chaud	Pas d'action.
2,4,5–TP (isooctylester)	3 L	sous eau	30/8/55	beau et chaud	Pas d'action.
Dichloralurée	100 kg	sous eau	30/8/55	beau et chaud	Pas d'action.
Acide naphtylphtalamique	10 kg	sous eau	30/8/55	beau et chaud	Pas d'action.
Dalapon	25 kg	sous eau	30/8/55	beau et chaud	Pas d'action.
Sulfamate/NH_4	100 kg	sous eau	30/8/55	beau et chaud	Pas d'action.

(1) L'étang a été remis sous eau 3 jours après le traitement.

TABLEAU VI

Traitement sur Prêles (Equisetum limosum et palustre)

Produits	Quantité/Ha	Date	Météorologie	Résultats obtenus (1) (2)
Dalapon	25 kg	1/6/55	beau et chaud	Plantes complètement détruites en juillet.
Dalapon	50 kg	1/6/55	beau et chaud	Plantes complètement détruites en juillet.
CMU	10 kg	1/6/55	beau et chaud	Assez bonne action – Destruction lente.
CMU	5 kg	1/6/55	beau et chaud	Assez bonne action – Destruction lente.
2,4,5-TES....................	10 kg	1/6/55	beau et chaud	Faible action.
2,4,5-TES....................	5 kg	1/6/55	beau et chaud	Faible action.
2,4-DB	10 kg	1/6/55	beau et chaud	Assez bonne action.
2,4-DB	5 kg	1/6/55	beau et chaud	Faible action.
2,4,5-TP (butylétherester)	3 L	1/6/55	beau et chaud	Assez bonne action.
2,4,5-TP (butylétherester)	5 L	1/6/55	beau et chaud	Destruction compoète en juillet.
2,4,5-T (ester amylique)	3 L	1/6/55	beau et chaud	Destruction complète en juillet.
MCPA	10 L	1/6/55	beau et chaud	Très faible action.
2,4-D amine	7 L	1/6/55	beau et chaud	Assez bonne action.
2,4-D amine	5 L	1/6/55	beau et chaud	Faible action.

(1) L'étang a été remis sous eau 3 jours après le traitement.

(2) Les prêles ont complètement disparu dans tout l'étang au début du mois d'aout.

Traitement sur Polygonum amphibium — Situation des racines : à sec

Produits	Quantité/Ha	Date	Météorologie	Résultats obtenus
CMU	20 kg	16/4/54	temps froid, averses et giboulées	Plantes détruites – pas de repousses le printemps suivant.
CMU	10 kg	16/4/54	idem	Peu d'action – peuplement intact le printemps suivant.
TCA	100 kg	16/4/54	idem	Faible activité - repousses nombreuses l'année suivante.
TCA	50 kg	16/4/54	idem	Action nettement insuffisante.
CMU + TCA	10 kg + 90 kg	16/4/54	idem	Bonne activité mais nombreuses repousses l'année suivante.
CMU + TCA	5 kg + 45 kg	16/4/54	idem	Activité trop faible.
Sulfamate/NH_4	400 kg	16/4/54	idem	Parcelles entièrement nues un an après le traitement.
Sulfamate/NH_4	200 kg	16/4/54	idem	idem.
CMU + Sulfamate	10 kg + 200 kg	16/4/54	idem	idem.
CMU + Sulfamate	5 kg + 100 kg	16/4/54	idem	Parcelles très propres un an après le traitement.
CMU + Sulfamate	5 kg + 95 kg	20/5/54	temps beau et doux	idem.
CMU + Sulfamate	2,5 kg + 47,5 kg	20/5/54	idem	Bonne action dans l'année, repousses l'année suivante.
CMU + TCA	4,5 kg + 45 kg	20/5/54	idem	Action assez bonne dans l'année – repousse rapide.
CMU + TCA	2,25 kg + 22,5 kg	20/5/54	idem	Action insuffisante.
2,4,5–T (ester amylique)	5 L	20/5/54	idem	Destruction rapide et complète – repousses au printemps suivant.
2,4,5–T (ester amylique) + TCA	2,5 L + 50 kg	20/5/54	idem	Destruction rapide et complète – Pas de repousses l'année suivante.
Sulfamate + TCA	55 kg + 45 kg	20/5/54	idem	Bonne action – très faible repousse l'année suivante.
2,4,5 T (ester amylique) + TCA	2,5 L + 50 kg	16/6/54	temps beau et chaud	Très bonne action mais repousse légère au printemps.
Dalapon	25 kg	17/5/55	pluies intermittentes	Destruction complète pas de repousses dans l'année.
Dalapon	50 kg	17/5/55	idem	idem.
2,4,5–T (ester amylique)	3 L	17/5/55	idem	Bonne destruction – 25% de repousses en juillet.
2,4,5–TP (butylétherester)......	3 L	17/5/55	idem	Bonne destruction – 25% repousses en août.
2,4,5–TP (butylétherester)......	5 L	17/5/55	idem	Bonne destruction – 25% repousses en septembre.
2,4–DB	5 kg	17/5/55	idem	Action nulle.
2,4–DB	10 kg	17/5/55	idem	Faible action passagère.
2,4,5–TES....................	5 kg	17/5/55	idem	Action nulle.
2,4,5–TES....................	10 kg	17/5/55	idem	Action nulle.
MCPA	10 L	17/5/55	idem	Action faible – repousses abondantes dès juillet.
MCPA	15 L	17/5/55	idem	idem.
2,4–D amine	5 L	17/5/55	idem	Bonne action – repousse faible en septembre.
2,4–D amine	7 L	17/5/55	idem	Très bonne action – moins de 1% de repousses à fin septembre.

Conclusions générales

Les résultats acquis au cours de ces traitements semblent nous permettre de considérer le problème de la destruction des grandes monocotylédones aquatiques comme virtuellement résolu au moyen de 25 kg/Ha de Dapalon appliqué au début de la repousse de ces plantes (mai, début juin au plus tard). Ce traitement est également actif contre la renouée aquatique dans les étangs à sec.

Si on ajoute au Dalapon une hormone, le 2,4-D amine et un adhésif on obtient, d'une part, un effet plus rapide et, d'autre part, une plus grande polyvalence permettant par un seul traitement appliqué à un moment bien choisi de débarrasser un étang de quelques unes des principales espèces nuisibles.

Mais, le Potamogeton s'est montré, dans les conditions de nos essais, réfractaire à tous les produits essayés.

Il est indispensable que la recherche de méthodes susceptibles de détruire cette espèce soit poursuivie car on observe, déjà maintenant, l'envahissement par ces plantes de pièces d'eau débarrassées de renouées, plantains ou sagittaires. De même, le contrôle des plantes immergées, notamment de l'Elodea, reste un problème dans les étangs d'élevage où le Benochlor et l'Arsénite de soude sont inutilisables.

Nous espérons néanmoins que les quelques résultats que nous avons obtenus seront utiles à ceux qui ont la charge d'entretien d'étangs, pièces d'eau, berges de fleuves, canaux.

BIBLIOGRAPHIE

1. TILEMANS, E. Em. — Notes sur les Herbicides. Station de Phytopharmacie, Gembloux. Décembre 1952. pp. 87-88.
2. HUET, M. — Traité de pisciculture.
3. DADD, C. V. — Weed control on farm ditches. British weed control conference 1953, p. 400.
4. TIMMERMANS, J. A. — Essais sur le contrôle de la végétation aquatique au moyen d'herbicides. Station de Recherches de Groenendael 1955.
5. BIERNA, V. et MATHIEU, P. — Les produits chimiques utilisés dans la lutte contre les végétaux aquatiques. Pêche et Pisciculture, 63e année, juillet 52, n° 6, pp. 1-2-3.
6. SLAATS, M. et STRYCKERS, J. — Onkruidonderzoek en verbetering van de grasslandflora, pp. 85-91. D. Watervegetatie.
7. BOUGARD, M. — Lutte contre les végétaux aquatiques. Pêche et Pisciculture. 66e année, aout 1955, n° 8, pp. 3-7.
8. BOUGARD, M. — Les végétaux aquatiques. Pêche et Pisciculture. 66e année, septembre 1955, n° 9, pp. 7-8-9.
9. GRIGSBY, B. H., REIMER, C. A. et CUTLER, W. A. — Control of Cattails in drainage ditche. *Down to Earth.* vol. 10, n° 4, spring 1955, p. 14-15.

M. J. Zwijns, Maarssen

V : Mogelijkheid van gebruik van water, behandeld met Dalapon, als sproeiwater voor vruchtbomen, groenten, enz.

A : Nous n'avons pas étudié l'influence, sur la végétation, d'eau contenant de faibles quantités de „Dalapon".
Si les surfaces à traiter sont relativement grandes par rapport au volume total de l'eau, nous ne croyons pas que cette eau puisse causer des dégâts à la végétation.

RIJKSLANDBOUWHOGESCHOOL

NEGENDE JAARLIJKS SYMPOSIUM

OVER

PHYTOPHARMACIE

7 MEI 1957

COUPURE, 233
GENT
BELGIË

OVERDRUK UIT „MEDEDELINGEN VAN DE LANDBOUWHOGESCHOOL EN DE OPZOEKINGSSTATIONS VAN DE STAAT TE GENT" 1957, DEEL XXII, N° 3.

INHOUD

Gewijd aan het Negende Jaarlijks Symposium over Phytopharmacie

7 MEI 1957

RIJKSLANDBOUWHOGESCHOOL

NEGENDE JAARLIJKS SYMPOSIUM OVER PHYTOPHARMACIE

7 MEI 1957

COUPURE, 233
GENT
BELGIË

OVERDRUK UIT „MEDEDELINGEN VAN DE LANDBOUWHOGESCHOOL EN DE OPZOEKINGSSTATIONS VAN DE STAAT TE GENT" 1957, DEEL XXII, N° 3.

INRICHTEND COMITE

Voorzitter :	Prof. Ing. J. VAN DEN BRANDE.
Ondervoorzitters :	Prof. Dr Ing. A. VAN DEN HENDE. Prof. Ing. A. VERBELEN.
Secretaris :	Ing. R. H. KIPS.
Leden :	Prof. M. SLAATS. Prof. Ing. J. VAN HOLDER. Ing. J. D'HERDE. Ing. A. GILLARD. Ing. J. STRYCKERS. Ing. W. WELVAERT.

BESCHERMLEDEN

Attraco, N. V., Brussel.
Belgian Shell Company, Brussel.
Belgische Boerenbond, Leuven.
Fabriek van Chemische Producten, Vondelingenplaat.
„Fertila", J. De Foer-D. & M. Vermeersch, Gent.
Glaxo Laboratories, Ltd. Stoke Poges.
Gorsac, N. V., St-Truiden.
Groupement des Fabricants Belges de Sulfate de Cuivre, Brussel.
Ligtermoet & Zoon, Rotterdam.
Murphy Chemical Co, St-Albans.
Nourylande, N. V., Gent.
Phytosam, N. V., Evere.
Plant Products Corporation, Linkebeek.
Protex, p.v.b.a., Antwerpen.
Sels et Produits Chimiques, Brussel.
Société Belge de l'Azote, Liège.
Société Belge d'Electrochimie, Langerbrugge.
Société Chimique de Selzaete, Brussel.
Socothera, N. V., Brussel.
Svalöf, Zaaizadenkantoor, N. V., Berchem-Antwerpen.
Union Chimique Belge, N. V., Brussel.

De vergaderingen der verschillende secties werden voorgezeten door :

Voorzitters	Dr J. G. ten Houten, Wageningen. Ing. W. E. Van den Bruel, Gembloux. Dr A. J. P. Oort, Wageningen. Ing. M. Slaats, Gent. Dr P. Staner, Leuven.
Ondervoorzitters :	Dr H. Scheerlinck, Leuven. Dr H. W. Miles, London. Ing. R. Vanderwalle, Gembloux. Ing. E. Tilemans, Gembloux. Dr F. Chaboussou, Pont-de-la-Maye (Gironde).

VERGETEN HOOFDSTUKKEN UIT DE PHYTOPHARMACIE

door

J. de Wilde

Laboratorium voor Entomologie, Landbouwhogeschool, Wageningen

De pharmacopee omvat stoffen van de meest uiteenlopende werking, en door de mens ontdekt in alle tijdperken van zijn historie. Ze omvat galenische preparaten, volgens eeuwenoud recept gewonnen en dikwijls van plantaardige oorsprong. Terwijl de signaturenleer in de middeleeuwen de wankele basis vormde, werd na de renaissance het experiment meer en meer de grondslag van onze kennis van de werking der geneesmiddelen. Het duurde tot de 19e eeuw vóór op deze basis op grote schaal nieuwe stoffen werden gevonden, waarbij de ontwikkeling der chemie zuivering, isolatie en soms synthese van de ,,werkzame principes'' mogelijk maakte. Sedert het begin der 20e eeuw nemen de hormoonpreparaten in aantal en betekenis toe, terwijl het in de moderne tijd de antibiotica zijn, die zich het meest op de voorgrond plaatsen.

Naar physiologische maatstaven ingedeeld, omvat onze pharmacopee fundamentele celvergiften, remmers en stimulatoren van het zenuwstelsel en mede hierdoor van vele andere organen, reuk- en smaakstoffen, en talloze andere stoffen meer.

Hoe staat het in dit opzicht met de phytopharmacie?

Het moet voor een buitenstander wel schijnen alsof de phytopharmaceut eigenlijk een toxicoloog is, een gifmenger, die er op uit is alles te doden dat het welzijn van zijn cultuurplanten belaagt, zonder onderscheid van hogere of lagere trap van organisatie.

Er is dus met recht sprake van vergeten hoofdstukken uit de phytopharmacie.

Men is te veel geneigd te vergeten, dat insecten hoog georganiseerde dieren zijn, in staat tot zeer gecompliceerde gedragingen. Deze worden in belangrijke mate beheerst door zintuiglijke prikkels, waarvan de chemische een voornaam deel uitmaken. De modificatie van het gedrag van phytophage insecten door chemische stoffen is het thema van mijn betoog. Hierbij zullen in het bizonder de plantaardige en dierlijke stoffen worden besproken.

Vooraf enkele opmerkingen over de reuk- en smaakzin bij insecten. Beide zetelen in sensillen, in de cuticula en de epidermis gelegen, welke bestaan uit een of meer zintuigcellen verbonden

met een dunwandig deel van de cuticula. Wat de reukzin betreft : de antennen en soms de palpen der monddelen zijn de dragers hiervan; de sensillen zijn *Sensilla placodea* en *S. basiconica*. De laatste komen vooral bij rupsen en keverlarven voor. De *S. placodea* vinden we als regel bij imagines.

De smaakzin, die op contact met vloeistoffen reageert, vinden we *buccaal, antennaal* en *tarsaal*. Ook hier zijn haarvormige sensillen de zetel. Het gewoonste type is het gemengde, dubbelwandige sensillum, door Tinbergen ontdekt.

De vraag doet zich voor, welk gebruik een phytophaag insect bij de voedselkeuze van deze zintuigen maakt. Het is dus nodig wat uit te wijden over het gedrag van het phytophage insect bij de voedselkeuze.

Als voorbeeld nemen we de larve van de coloradokever, die zich zoals bekend is, voedt met de bladeren van verschillende Nachtschaden. Hoewel de enkelvoudige ogen bij het voedselvinden van deze larve niet zonder betekenis zijn, is ze ook zonder deze zintuigen in staat de bladeren van Solanumsoorten van andere plantenfamilies te onderscheiden. Zoals Chin (1950) gebleken is, geschiedt dit op grond van geurprikkels, die met de antennen worden waargenomen. Niet alle Solanumsoorten, waarvan de geur aantrekkelijk is, worden echter als voedsel geaccepteerd. Zo was reeds lang bekend dat sommige rassen van Solanum demissum als voedselplant ongeschikt zijn. Door het werk van Kuhn & Gauhe (1948) en Chin (1950) weten we dat dit veroorzaakt wordt door een in de plant aanwezige natuurlijke afweerstof (repellent).

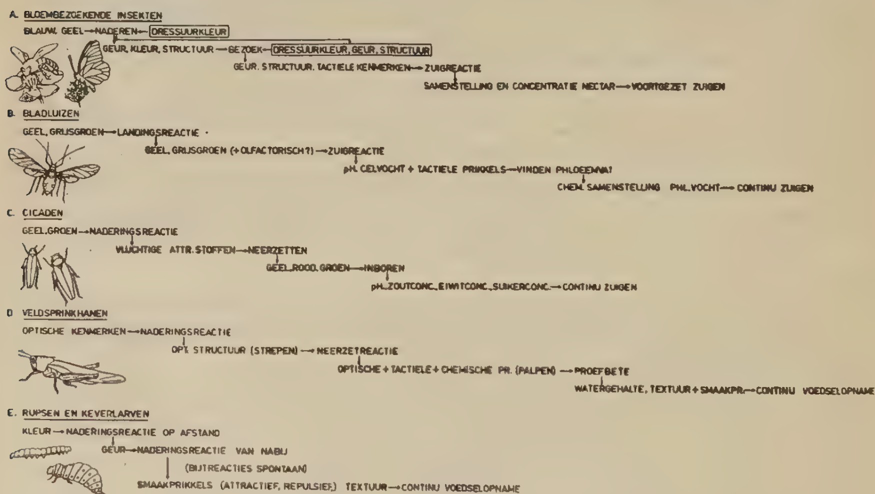


Fig. 1. — Schema van prikkels en reacties bij het voedselvinden van enige phytophage insecten.
Men lette op de betekenis van chemische prikkels voor het totstandkomen van continue voedselopname.

In fig. 1 wordt de keten van prikkels en reacties bij het voedselvinden van de coloradokever en een aantal andere phytophage insecten weergegeven. De grote betekenis van de chemische eigenschappen van de plant voor het tot stand komen van deze voedselkeuze blijkt hieruit zonder meer.

Men zegt wel, dat het dieet van insecten 30 ingredienten moet bevatten : 12 aminozuren, 10 B-vitaminen, cholesterol, glucose, ribonucleïnezuur en een vijftal zouten. De groene plant synthetiseert de organische nutrienten in ruime mate. Maar indien het al waar is, dat bij brood alleen de mens niet kan leven, dan geldt dit zeker voor het oligophage insect, waarbij een „signaalstof" een voorwaarde is voor de voedselopname.

De vraag doet zich voor, welke stoffen het zijn die de voedselkeuze van insecten bepalen. Het is duidelijk dat deze vraag van grote betekenis is voor de toegepaste entomologie. Het kweken van cultuurrassen met een laag gehalte aan phagostimulantia resp. met een zeker gehalte aan afweerstoffen moet bv. een der doeleinden zijn van de plantenveredeling.

Het blijkt, dat aetherische oliën, glucosiden en alcaloiden hier een belangrijke rol spelen. Het was al lange tijd bekend, dat het voorkomen van deze stoffen in het plantenrijk een zekere samenhang vertoont met bepaalde systematische groeperingen. Verwante plantensoorten hebben bij voorbeeld dikwijls chemisch verwante aetherische oliën. De wetenschap der phytochemie berust hierop.

Anderzijds was al lange tijd bekend, dat vele phytophage insecten zich in hun voedselkeuze dikwijls tot één plantenfamilie beperken; een „botanisch instinct" werd hiervoor aansprakelijk gesteld.

Reeds in 1910 opperde de Amsterdamse botanicus Verschaffelt het vermoeden dat deze voedselkeuze een phytochemische basis heeft; een veronderstelling die hij met elegante proeven een begin van bewijs verleende. Pas enkele tientallen jaren later zijn zijn resultaten naar waarde geschat. Ik moge dit aan de volgende voorbeelden toelichten. Het eerste is ontleend aan onderzoek van de Amerikaanse physioloog Dethier.

Het bekende vlindergeslacht *Papilio* omvat ± 400 soorten, die ten aanzien van de voedselkeuze in vier groepen kunnen worden verdeeld :

1. Polyphage insecten
2. Aristolochia-eters
3. Rutaceeën-eters
4. Umbelliferen-eters.

De laatste groep omvat 11 soorten, waaronder de Amerikaanse *P. ajax* en de Europese *P. machaon*, de bekende koninginnepage. Beide soorten tasten merkwaardigerwijze ook enkele Rutaceeën

aan. Zo vond in 1936 Docters van Leeuwen in zijn tuin te Leersum op de Vuurwerkplant, Dictamnus fraxinella, een grote populatie *machaon*-rupsen. *Papilio ajax* eet o.m. Ruta graveolens, de Wijnruit.

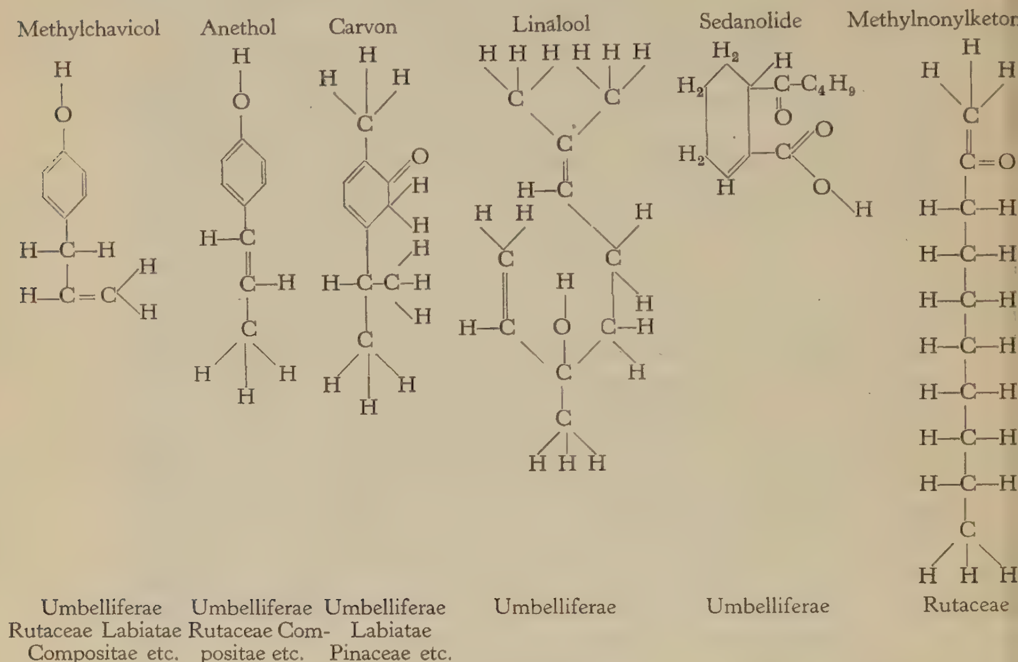


Fig. 2. — Structuur van enige aetherische olien, voorkomende in verschillende plantensoorten.

Umbelliferen bevatten nu een zevental aetherische oliën; Daucus- en Angelica-olie, Methylchavicol, Anethol, Carvon, Linalool en Sedanolide. Al deze stoffen zijn terpenen, waarvan Linalool er een is met aliphatisch karakter.

Dethier kon nu aantonen, dat *P. ajax*-rupsen voor deze oliën een sterke voorkeur vertonen. Zelfs kon hij bijtreacties verkrijgen op filtreerpapier, dat met Daucusolie was geïmbibeerd.

Dictamnus fraxinella heeft nu met de Umbelliferen het bezit van methylchavicol en anethol gemeen, wat de waarneming van Docters van Leeuwen verklaart.

Merkwaardigerwijs bevat Ruta graveolens methylnonylketon, waarvan de geur in sterke mate van de terpenen verschilt. Ook deze stof bleek, op filtreerpapier gebracht, een sterke aantrekkingskracht op de rupsen van *P. ajax* uit te oefenen. Klaarblijkelijk vertonen deze een binding aan twee verschillende groepen van stoffen. Eveneens merkwaardig is dat, terwijl vele Rutaceeën methylnonylketon bevatten, slechts een enkele soort werd geaccepteerd.

Citrus medica bv., die bovendien citrol bevat, werd geweigerd. Dit wijst reeds op het voorkomen van afwerende stoffen naast de aantrekkelijke, in één en dezelfde plant.

In 1830 isoleerde de Franse apotheker Leroux uit wilgenbast het salicine, een koortswerende stof, die naast glucose een restgroep, het aglucon bleek te bevatten. Later is gebleken, dat dergelijke

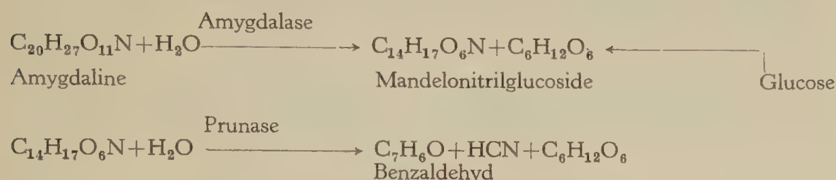


Fig. 3. — Hydrolytische splitsing van amygdaline.

glucosiden in vele plantenfamilies voorkomen. Zo vindt men in vele Rosaceeën het *amygdaline*, dat bij beschadiging van het weefsel onder invloed van het in de plant voorkomende *emulsine* in *benzaldehyd* en *glucose* wordt gesplitst.

Reeds Verschaffelt kon aantonen dat de bladwesp *Priophorus padi* L., die Rosaceeën aantast, zijn specificiteit ontleent aan het voorkomen van amygdaline. Rosaceeënsoorten die het glucoside niet of in geringe concentratie bevatten, worden niet geaccepteerd.

Benzaldehyd alleen bleek slechts een geringe attractie op te leveren. Dethier heeft echter later in proeven met de American Tent Caterpillar gevonden, dat een waterige emulsie van benzaldehyd en blauwzuur tezamen de grootste aantrekkingskracht bezit.

Vele insecten specialiseren zich in het aantasten van Cruciferen.

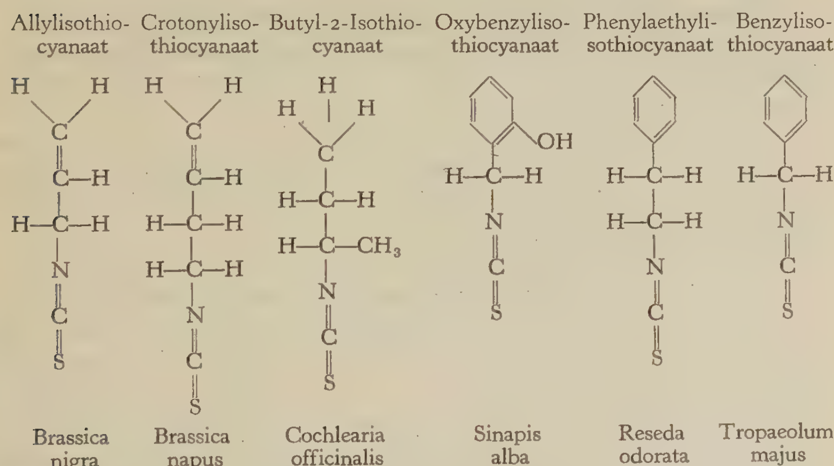
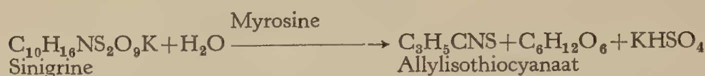


Fig. 4. — Enige mosterdolien en hun voorkomen in verschillende plantensoorten.

Zeer interessant zijn dan ook de resultaten die men verkregen heeft met de zgn. mosterdolie-glucosiden, die vooral in Cruciferen worden gevonden. Het glucoside bevat naast een zuur verschillende penetrant geurende mosterdoliën, o.m. allyl-, oxybenzyl-, benzyl- en phenylaethyl-isothiocyanaat. Deze worden respectievelijk in sinigrine, sinalbine en in Tropaeolum- en Resedaglucoside aangetroffen, en hieruit door inwerking van het enzym *myrosine* vrijgemaakt.



$$\underset{\text{Sinigrine}}{C_{10}H_{16}NS_2O_9K} + H_2O \xrightarrow{\text{Myrosine}} \underset{\text{Allylisothiocyanaat}}{C_3H_5CNS} + C_6H_{12}O_6 + KHSO_4$$

Fig. 5. — Hydrolytische splitsing van het allylmosterdolie-glucoside sinigrine.

Nu is het merkwaardig, dat de bekende koolwitjes, *Pieris*-soorten, behalve cruciferen, ook O.I.kers en Reseda kunnen aantasten; ook zien we, dat de verwante *Pontia daplicide* zich op Reseda als voedselplant specialiseert. De verwantschap van deze laatste soort met *Pieris* is zo nauw, dat men soorts-bastaarden teweeg kan brengen. Inderdaad konden ,,neutrale'' bladsoorten door toevoeging van sinigrine voor *Pieris*-rupsen eetbaar worden gemaakt. Later heeft de Canadese onderzoeker Thorsteinson, die met *Plutella maculipennis*, het koolmotje, werkte, quantitatieve proefnemingen met verschillende mosterdolie-glucosiden verricht. Uiterst geringe concentraties sinigrine (2 p.p.m. in een gel van agar en erwtenbladmeel) bleken nog werkzaam te zijn. Toegevoegd aan een onwerkzame concentratie van mosterdolie was 64.10^{-8} sinigrine nog werkzaam. De mens is nauwelijks in staat de 1000-voudige concentratie te proeven.

Toevoeging van myrosine bleek de werkzaamheid te verminderen; alleen het ongesplitste glucoside is werkzaam. Glucocheiroline, dat in Cheiranthus voorkomt en voor de mens reukloos is, bleek voor *Plutella* aantrekkelijk te zijn.

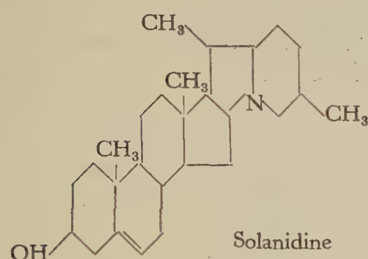
De vraag doet zich voor, of wij hier met reuk- dan wel met smaakstoffen te doen hebben. In dit geval kan met zekerheid worden gezegd, dat sinigrine werkzaam is na contact van de oplossing met de monddelen; als *smaakstof* dus.

Tot nu toe werden stoffen besproken die de vreterij bevorderen : phagostimulantia. Wij gaan nu over tot de bespreking van de rol der alcaloïden, N-houdende stoffen met basis karakter, waarvan de eerste, het morphine, in 1814 door de Duitse apotheker Sertürner werd geïsoleerd.

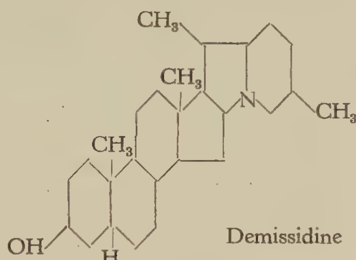
In het bizonder de Solanaceeën onderscheiden zich als plantenfamilie door het voorkomen van specifieke alkaloïden, waaronder zeer giftige als nicotine en atropine. Onder de oligophage insecten die nachtschaden eten is er wel geen zo berucht als de colorado-

kever, over wiens voedselkeuze ik al eerder sprak. Reeds in 1934 hebben Trouvelot en Raucourt onderzoek verricht naar de aard van de ,,substance attractif'' der Solanaceeën. Het alkaloïd solanine uit de aardappel bleek hierbij geen rol te spelen, en hoewel er verschillende pogingen zijn verricht, vooral van Franse zijde, om de attractiestof in handen te krijgen is men hierin tot nu toe niet geslaagd. Wel is uit het werk van Chin gebleken, dat verschillende nachtschadensoorten een ongeveer even aantrekkelijke geur voor de larven bezitten.

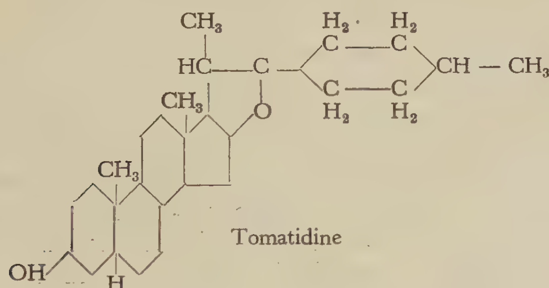
Daarnaast is het een opvallend feit, dat zelfs binnen de sectio Tuberaria van het geslacht Solanum soorten voorkomen, die niet



+ 1 Galactose + 1 Glucose + 1 Rhamnose = α Solanine
+ 1 Glucose + 2 Rhamnose = α Chaconine



+ 1 Xylose + 1 Galactose + 2 Glucose = Demissine



+ 2 Galactose + 3 Glucose = Tomatine

Fig. 6. — Samenstelling van enkele Solanum-alcaloïden.

als voedsel worden geaccepteerd. Het bekendst zijn *S. demissum* en *S. chacoense*, omdat men hiermee al sedert jaren kruisingswerk verricht. Door Chin werd aangetoond dat in *S. demissum* een afwerende smaakstof aanwezig moest zijn. Inderdaad vonden Kuhn & Gauhe, dat het alcaloïdglucoside demissine een afwerende smaak bezit, in tegenstelling tot solanine, dat volkomen smaakloos

is. In de bladeren van S. demissum is demissine in een concentratie van ± 0,5% aanwezig.

Dezelfde concentratie, door infiltreren in aardappelblad gebracht, maakte dit oneetbaar voor de larven van de coloradokever. Op dezelfde wijze kon de resistentie van de tomaat door de aanwezigheid van tomatine worden verklaard. De oorzaak van de resistentie van Sol. chacoense is aanvankelijk aan andere oorzaken toegeschreven. De Duitse chemici Hesse en Meyer meenden aanvankelijk op het spoor te zijn door de vermeende ontdekking dat acetaldehyde in een zeer geringe hoeveelheid in aardappelblad als phagostimulant werkzaam zou zijn. In Sol. chacoense zou het acetaldehyde-gehalte zeer veel lager zijn dan in de aardappel. Al spoedig bewees echter Langenbuch (1952) dat hiermee de verklaring niet was gegeven. Hij kon door eenvoudige ,,bladsandwich"- en infiltratieproeven aantonen dat in S. chacoense een afwerende stof aanwezig moest zijn.

Nu hadden Kuhn en Löw al jaren geleden aangetoond dat het alcaloïd chaconine zeer veel overeenkomst vertoont met solanine en alleen in het saccharide-gedeelte verschilt. Zij konden dan ook aantonen dat de smaak hiervan voor Leptinotarsa niet afwerend is. Korte tijd geleden is het raadsel opgelost door een nieuwe ontdekking uit het Heidelberger Laboratorium. Kuhn en medewerkers hebben als tweede alcaloïd uit S. chacoense het *Leptine* beschreven, een in water oplosbaar glycoalcaloïd, waarvan het aglucon een tweewaardige alcohol zou zijn.

Deze stof werkt op de larven als een krachtig repellent, en wel in de concentratie die in de plant aanwezig is.

Het gedrag van insecten is een der boeiendste mysteries waarmee de bioloog wordt geconfronteerd. In het algemeen hierover te spreken brengt reeds gevaren van generalisatie mee. De moderne gedragsphysiologie neemt aan, dat iedere gedragsvorm begint met een inwendig proces, de *motivatie*. Honger is hiervan een der meest sprekende voorbeelden. Als gevolg hiervan ontstaat een *ongericht zoekgedrag*, door Lorentz karakteristiek als *appetenzverhalten* betiteld. Verschillende prikkels kunnen nu *richtend* optreden, er ontstaat een *taxis*, die optisch (fototaxis) of chemisch (chemotaxis) gericht kan zijn. Deze vinden weer hun oorzaak in een aangeboren *preferentie* van het insect, en vertonen in het algemeen een grote doelmatigheid. Wanneer nu op geleide van de richtende prikkels de voedselbron bereikt is, treden in de nabijheid hiervan *signaalprikkels* op, die een geheel ander effect hebben. In het geval van de voedselopname moet men aannemen, dat de monddelen in voortdurende staat van bereidheid zijn hun activiteit te beginnen. Rupsen en phytophage keverlarven bijten herhaaldelijk in de ondergrond, zonder dat er sprake is van voedselopname. Deze laatste heeft alleen plaats wanneer de monddelen

zenuwimpulsen ontvangen vanuit het suboesophageale ganglion, dat echter van het cerebrale ganglion een *remmende* invloed ondergaat. Deze remming wordt nu door de signaalprikkel opgeheven.

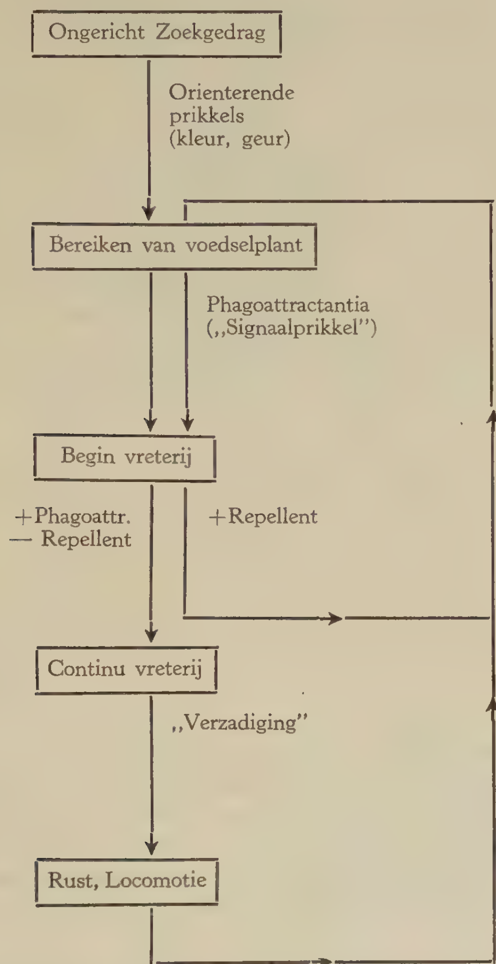


Fig. 7. — Algemeen schema van het gedrag bij het voedselvinden van phytophage insecten.
De cyclisch verlopende pijlen geven de gang van zaken weer, wanneer de voedingsreacties worden onderbroken zonder dat het dier de voedselplant verlaat.

In het door ons besproken geval zal een reuk- of smaakstof (phagostimulant) de rol van signaalprikkel vervullen. Het effect hiervan kan door secundaire prikkels worden teniet gedaan, bv. door afwerende smaakstoffen in het plantenweefsel (controlerende

functie van de smaakzin). Zolang de motivatie niet is opgeheven, zal de keten echter telkens weer worden hervat.

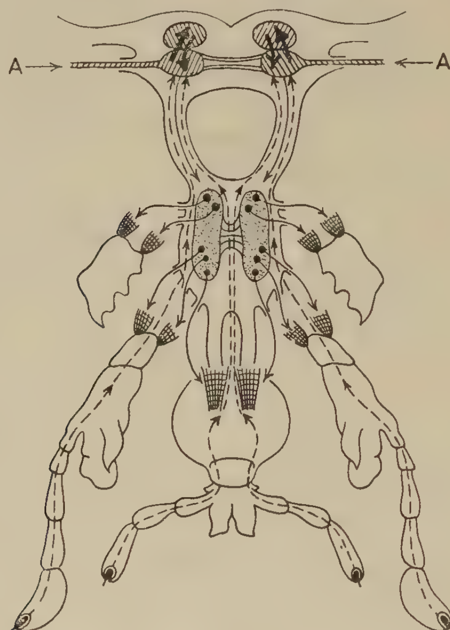


Fig. 8. — Schema van de innervatie van de monddelen en de centra in cerebraal en suboesophageaal ganglion die deze beheersen.

De vraag doet zich verder voor, of orienterende- en signaalstof identiek kunnen zijn.

In het geval van de aetherische oliën kan op grond van proeven van Dethier worden gezegd dat inderdaad beide werkingen van éénzelfde terpeen kunnen uitgaan. Uit proeven van Thorsteinson blijkt, dat het splitsingsproduct van sinigrine, het allylisothiocyanaat, op korte afstand oriënterend werkt. Sinigrine zelf is signaalstof.

Uitvoerig is deze vraag ook door Thorpe (1947) en zijn medewerkers nagegaan. Zij vonden dat bij ritnaalden asparagine en glucose tegelijkertijd als phagostimulant en orienterende stof werkzaam zijn, in het laatste geval echter in zeer geringe concentratie.

Mogelijk ligt hier de oplossing van de vraag, waarom sommige insecten oligophaag, andere polyphaag zijn. In het laatste geval reageren de dieren op phagostimulantia, die niet specifiek zijn.

Deze resultaten vormen nu een uitdaging aan de plantenveredeling, die nu voor het eerst een welomschreven resistentiefactor ten aanzien van insecten in handen heeft die chemisch

volkomen bepaald is. Verbetering in de techniek der seriebepaling van deze moeilijke groepen van stoffen zal er ongetwijfeld in de naaste toekomst toe leiden dat omslachtige biologische toetsmethoden in chemische bepalingen zullen kunnen worden omgezet.

Naast de phagostimulantia zijn de bepalende factoren bij de eiafzetting van phytophagen belangrijke onderwerpen voor toekomstig onderzoek. De phytophage larve wordt als regel op de plant geboren en bezit een gebrekkige beweeglijkheid vergeleken bij de imago. Er is nog betrekkelijk weinig onderzoek over signaalstoffen bij de ovipositie verricht. Wat hierover bekend is wijst in dezelfde richting als de larvale voedselkeuze; ovipositie-attractantia spelen een rol.

Het is nog steeds de vraag of dit de verklaring is voor de merkwaardige aantrekkingskracht, die Geraniol uitoefent op de beruchte Japanse kever, *Popillia japonica*. In ieder geval konden met deze aliphatische terpeenalcohol evenals met het verwante Citronellol, op grote schaal vangsten worden verricht. In één

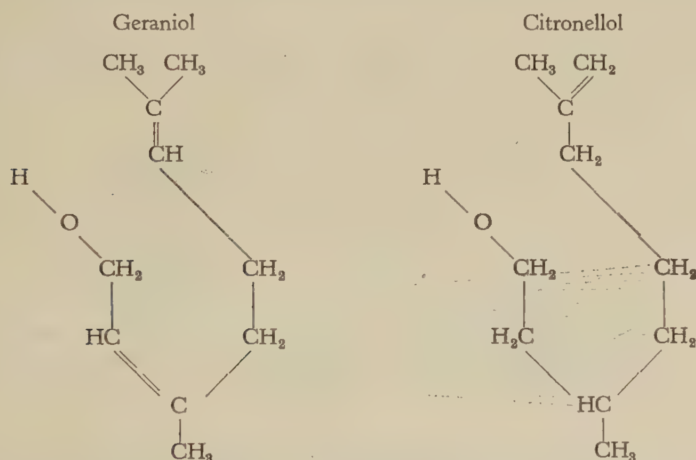


Fig. 9. — De aliphatische terpeen-alcoholen geraniol en citronellol, twee attractantia van de Japanse kever, Popillia japonica.

lokval, voorzien van geraniol, werden binnen 8 uur niet minder dan 13.000 exemplaren gevangen. Hier tegenover staat het feit, dat Citronella bv. voor muggen een krachtig repellent is. Het blijkt, dat hier de concentratie zeer belangrijk is.

Tot slot wil ik nog wijzen op een groep van stoffen, die voorlopig alleen biologisch gedefinieerd is, en zich onderscheidt door een bijna ongelooflijke werkzaamheid. Ik bedoel de zgn. sex attractants, die in het bizonder door de wijfjes van verschillende nachtvlinders worden geproduceerd en reeds op zeer grote afstand mannetjes kunnen aanlokken. In het bizonder bij de Saturniïdae,

Sphingidae en Bombycidae, maar ook bij vele andere ook economisch belangrijke vlinderfamilies bezitten de wijfjes aan het uiteinde van het achterlijf uitgebreide geurklieren, waarvan het secreet een voor het menselijk reukorgaan nauwelijks waarneembare geur bezit.

Ongetwijfeld zijn velen Uwer bekend met de boeiende beschrijving van Fabre, in de Souvenirs Entomologiques, van de nachtelijke vangst van vele tientallen mannetjes van de zeldzame *Saturnia pyri*, die een ingekooid wijfje van kilometers afstand bleken te kunnen opsporen. Door Mell (1922) zijn nauwkeurige afstandsbepalingen gedaan met de pijlstaartvlinder *Arctias selene*. Op 11 km afstand losgelaten, vonden enkele ♂♂ een ingekooid ♀.

Fabre beschouwde het als onmogelijk, dat de reukzin tot dergelijke prestaties in staat zou zijn, en meende het effect aan onbekende stralingsactiviteit te moeten toeschrijven.

De laatste jaren zijn Butenandt en zijn medewerkers er in geslaagd, het ,,sexattractant'' van de gekweekte zijderups te zuiveren en te concentreren. Het is waarschijnlijk een tweewaardige alcohol met brutoformule $C_{16}H_{30}O_9$; 0,01 γ op een glasstaafje gebracht, veroorzaakt levendige activiteit en copulatiepogingen bij ♂♂ van dezelfde soort.

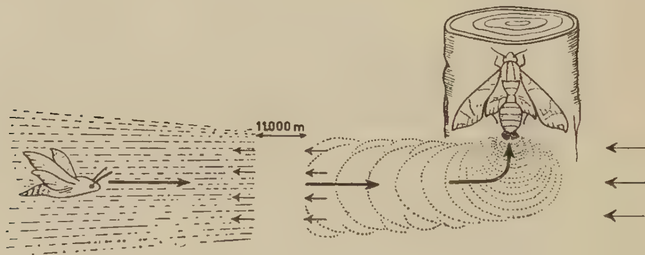


Fig. 10. — Schema van de chemoanemotaxis, eindigend in een chemo-tropotaxis, waardoor het vinden van de partner bij sommige nachtvlinders tot stand komt. Het wijfje (zittend op een boomstam) heeft de geurorganen uitgestulpt.

Gaat men na in welke mate een dergelijke stof na transport over 11 km wordt verdund, dan komt men tot enkele honderden moleculen per cc. Het concentratie verval over enkele tientallen meters is zó gering, dat op geleide hiervan de ,,geurbron'' nooit zou kunnen worden opgespoord. Bij benadering is het verval van de 10^{e} tot de 11^{e} km : van 500 mol/cc $\rightarrow$ 300 mol/cc.

Men moet wel aannemen, dat hier een ,,chemoanemotaxis'' in het spel is; hier geeft de signaalstof aanleiding tot vliegbewegingen die tegen de luchtstroom in gericht zijn. In de nabijheid

van het wijfje gekomen, zou dan de geurgradiënt moeten worden gevolgd (Hecker, 1957).

De toekomst zal moeten leren, of het synthetisch bereiden van chemische, gedrags-modificerende stoffen een omwenteling in de insectenbestrijding zal betekenen. Ook wanneer ze zouden leiden tot het doorbreken van de verstarring, waarin de chemische bestrijding thans verkeert, zou echter al veel gewonnen zijn.

LITERATUUR

BRUES, C. T. — Insect dietary. *Cambridge Mass.*, 1946.

BUTENANDT, A. — Untersuchungen über Wirkstoffe im Insektenreich. *Angew. Chemie* **54**, 1941, pp. 89-90.

CHIN, CHUN-TEH. — Studies on the physiological relations between the larvae of Leptinotarsa decemlineata Say. and some Solanaceous plants. *Thesis*, Amsterdam, 1950.

DETHIER, V. G. — Gustation and olfaction in lepidopterous larvae. *Biol. Bull.* **72**, 1937, pp. 7-23.

DETHIER, V. G. — Chemical factors determining the choice of food plants by Papilio larvae. *Am. Naturalist* **75**, 1941, pp. 61-73.

DETHIER, V. G. — Chemical insect repellents and attractants, London, 1947.

FABRE, J. H. — Souvenirs Entomologiques. Paris 1920.

FREILING, H. H. — Die Duftorgane der weiblichen Schmetterlinge. Leipzig, 1909.

HECKER, E. — Isolierung und Charakterisierung des Sexuallockstoffes des Seidenspinners. *Abstr. Xth Int. Congr. Entom.* 1957.

HESSE, G. & R. MEIER. — Ueber einen Stoff, der bei der Futterwahl des Kartoffelkäfers eine Rolle spielt. *Angew. Chemie* **62**, 1950, pp. 502-506.

KNOLL, F. — Insekten und Blumen. *Abh. Zool. Bot. Gesellschaft*, Wien, 1926.

KUHN, R. & I. LÖW. — Resistance factors against Leptinotarsa decemlineata Say., isolated from the leaves of wild Solanum species. *Origin of Resistance to toxic agents.* New York, 1955.

KUHN, R. & I. LÖW. — Neue Alkaloïdglucoside in den Blättern von Solanum chacoense. *Angew. Chemie* **69**, 1957.

LANGENBUCH, R. — Ist das Fehlen eines ,,Frassstoffes'' oder das Vorhandensein eines ,,Vergällungsstoffes'' die Ursache für die Resistenz der Wildkartoffel S. chacoense Bitt. gegenüber dem Kartoffelkäfer. *Ztschr. Pflanzenkrankh. u. Pflanzenschutz*, **59**, 1952, pp. 179-189.

MELL, R. — Biologie und Systematik der südchinesischen Sphingiden, 1922.

NUORTEVA, P. — Die Nahrungspflanzenwahl der Insekten im Lichte von Untersuchungen an Zikaden. *Ann. Ac. Sc. Fenn. IV, Biologia*, 1952, pp. 7-90.

THORSTEINSON, A. J. — The chemotactic responses that determine host specificity in an oligophageous insect (Plutella maculipennis Curtis, Lepidoptera). *Can. J. Zool.* **31**, 1953, pp. 52-72.

VERSCHAFFELT, E. — The cause determining the selection of food in some herbivorous insects. *Proc. Ac. Sci.* Amsterdam **13**, 1910, pp. 536-542.

WILLIAMS, L. — The feeding habits and food preference of Acrididae and the factors which determine them. *Trans. Roy. Ent. Soc. Lond.* **105**, Pt. 18, pp. 423-454.

LA RECHERCHE PHYTOPATHOLOGIQUE AU CONGO BELGE

par

P. C. Lefèvre

Attaché à l'INEAC.

Cet exposé comprendra trois parties. La première est relative à la période précédant 1934, la deuxième à celle s'étendant de 1934 à nos jours et la troisième rapporte quelques résultats obtenus.

I. — AVANT 1934 :

Le Baron Van Eetvelde sut persuader le Roi Léopold II qu'un pays dont l'économie est basée uniquement sur des produits de cueillette est destiné à végéter. Dès 1892 Van Eetvelde cherche à installer des plantations de caféiers, de cotonniers, de tabac, etc. La création de grandes plantations au Congo est pourtant de date assez récente. Grâce aux récoltes et aux observations des premiers agronomes et planteurs les spécialistes purent dépister pas mal de champignons et d'insectes parasites des cultures : c'est ainsi qu'en 1895, Emile Laurent signalait déjà les premiers parasites des caféiers parmi lesquels la fameuse rouille : *Hemileia Vastatrix*, en 1903 Pynaert étudiait le pourridié des racines du cacaoyer et du *Manihot glaziovii* dû au *Formes lignosus*, en 1911, H. Schouteden énumérait des Hémiptères parasites du cacaoyer, du caféier et du cotonnier et commençait à rassembler ses splendides collections africaines, cotées aujourd'hui, comme les plus belles et les plus complètes du monde pour l'Afrique centrale.

Le service phytopathologique est créé en 1911 par le Professeur Leplae, Directeur général au Ministère des Colonies. Mayné part en qualité d'entomologiste; peu après, le Dr. Vermoesen, rentrant des Indes, vient prendre, à ses côtés, les fonctions de mycologiste.

Tout de suite, la principale culture expérimentale de l'époque, le cacaoyer, fait l'objet de leurs recherches. La biologie des parasites et les moyens de les contrôler sont précisés, au point que les travaux qu'ils publièrent alors font encore autorité. Mayné, ne s'est pas limité à l'étude des insectes dévastateurs des plantations mais a entamé l'élaboration de la liste des insectes utiles et nuisibles à l'agriculture.

Les travaux de faunistique bénéficièrent de la collaboration du Musée Royal du Congo belge à Tervuren, de l'Institut Royal des sciences naturelles de Belgique et de l'Imperial Bureau of Entomology du British Museum.

Depuis lors, les études des entomologistes et des mycologistes se sont succédées sans discontinuer. C'est ainsi que Ghesquière, de 1918 à 1926 a parcouru les principales régions, portant particulièrement intérêt au cotonnier dont la culture prenait chaque année une plus grande extension. Il étudia aussi les plantations de cacaoyers.

A partir de 1922, Seydel s'intéresse aux insectes ennemis des cultures vivrières pratiquées au Katanga.

De 1926 à 1931, Staner, étudie les champignons ennemis du caféier, de l'hévéa et des plantes vivrières.

En 1930, l'importance de plus en plus grande prise par la culture cotonnière et l'apparition d'ennemis nouveaux nécessite le renforcement de l'équipe des phytopathologistes; Madame Soyer-Poskin, Steyaert et Vrydagh s'attèlent à l'étude de la question.

Dès 1931, Bredo, étudie, à Bambesa, les insectes ennemis du cotonnier, puis se spécialise dans la lutte antiacridienne. Par après, en 1932, J. Leroy, s'attache d'abord à l'étude des ennemis du cotonnier, ensuite à celle des caféiers.

Moi-même dès 1933 et Fred Hendrickx, dès 1937, étudièrent les ennemis du caféier d'Arabie, du quinquina et des plantes vivrières d'abord au Ruanda-Urundi, ensuite dans l'Ituri, pour le premier, et au Kivu, pour tous deux dès 1937.

Depuis 1933, Henrard a étudié les ennemis du cotonnier, du palmier à huile et les problèmes relatifs à la protection des grumes.

II. — DE 1934 A NOS JOURS :

Une date importante est à retenir dans l'évolution de la recherche agronomique, la fondation de l'INEAC le 22 décembre 1933.

Cet institut, dirigé par une Commission composée de compétences scientifiques coloniales, a pour objet principal de promouvoir le développement scientifique de l'agriculture.

L'INEAC a installé au Congo belge et au Ruanda-Urundi, des Stations de Recherches dans les principales régions naturelles représentant un milieu écologique défini pour les cultures les plus importantes.

Le Centre de Recherches de Yangambi englobe toutes les Divisions, Laboratoires ou Organes qui participent directement aux recherches.

La cellule administrative et technique du Centre de Recherches est la Division : dirigée par un chef de Division.

Depuis 1938, la Division de Phytopathologie et d'Entomologie agricole de l'INEAC constitue le service officiel d'étude et de prévention des épiphyties au Congo. Cette nouvelle disposition lui donne la possibilité d'aider davantage les planteurs dans la lutte contre les maladies et les parasites des plantes cultivées. C'est ainsi que tout résidant du Congo belge et du Ruanda-Urundi peut solliciter et obtenir gratuitement des consultations sur tout organisme nuisible qui endommage ses cultures et sur les moyens de le combattre. Il suffit d'adresser une demande de renseignements soit au laboratoire central de la Division à Yangambi, soit à l'un des cinq laboratoires régionaux de Bambesa, Mulungu, Gandajika, Kaniama et Rubona (Ruanda-Urundi). La création prochaine d'un nouveau laboratoire à Mvuazi (Bas-Congo) renforcera encore les moyens d'action de la Division.

La spécialisation de ces laboratoires est en relation avec les cultures principales des diverses zones.

Laboratoire central de Yangambi. Zone desservie : Secteur forestier central (Cuvette).

Ce laboratoire étudie principalement les maladies et les ennemis du palmier à huile, du caféier Robusta, du cacaoyer, de l'hévéa, des cultures vivrières, des arbres fruitiers, des plantes ornementales, etc. La protection des bois figure aussi au programme.

Laboratoire Régional de Bambesa. Zone desservie : Secteur de l'Ubangi-Uele.

Son activité s'étend essentiellement aux maladies et ennemis du caféier Robusta, du cotonnier, des plantes vivrières, etc.

Laboratoire Régional de Mulungu. Zones desservies : Secteurs du lac Albert (Ituri) et des lacs Edouard et Kivu.

Ce laboratoire s'occupe plus particulièrement des maladies et des parasites du caféier d'Arabie, du pyrèthre, du théier, du quinquina, des plantes vivrières, des arbres fruitiers, des cultures potagères, des plantes à parfum.

Laboratoire Régional de Gandajika. Zones desservies : Secteurs du Kwango, du Haut-Kasai, du Bas-Kasai, du Sankuru-Maniema et la vallée de la Ruzizi.

Il traite surtout les maladies et les insectes nuisibles du cotonnier, des plantes vivrières, des cultures potagères, des arbres fruitiers.

Laboratoire Régional de Kaniama. Zone desservie : Secteur du Katanga.

Les recherches portent principalement sur les maladies et les ennemis du tabac, de la pomme de terre, des arbres fruitiers.

Laboratoire Régional de Rubona. Secteur du Ruanda-Urundi (sauf la vallée de la Ruzizi).

Son activité comprendra, en ordre principal, l'étude des insectes nuisibles et des maladies du caféier d'Arabie et des plantes vivrières.

Laboratoire Régional de Mvuazi. Secteurs du Bas-Congo et du Mayumbe.

Ce laboratoire sera installé prochainement, il inscrira à son programme les maladies et les ennemis des arbres fruitiers, du palmier à huile, du cacaoyer, du caféier Robusta, des plantes vivrières, des cultures potagères, etc.

En tant que Service public, la Division de Phytopathologie et d'Entomologie agricole fournit les renseignements demandés, diffuse des bulletins d'information et d'avertissement, assure le contrôle phytosanitaire et intervient d'urgence dans le rayon d'action de ses laboratoires.

Comme unité de recherches, elle concentre son activité à Yangambi sur les points suivants :

a) Recherches phytopharmaceutiques : tests et essais d'appareils et produits, mise au point de leur emploi et de leur utilisation, étude des dépôts suite à l'épandage d'insecticides et de fongicides, de leur persistance d'efficacité ou effet résiduel, étude de la conservation des denrées alimentaires, etc.

b) Recherches mycologiques en relation avec la défense des principales plantes cultivées (trachéomycoses fusariennes, pourridiés, etc.).

c) Recherches entomologiques sur les populations d'insectes en fonction de leurs incidence économique et des modifications apportées par les diverses méthodes culturales. Recherches sur l'entomologie forestière et la protection des bois.

La Division contrôle encore l'activité technique des laboratoires régionaux.

La Division comprend actuellement douze unités, à savoir :

Chef de Division :

M. Fraselle, J. (mycologiste, Yangambi).

Chargés de recherches :

MM. Schmitz, G. (entomologiste, Bambesa).
Vekemans, J. (phytopathologiste, Kaniama).

Assistants :

MM. Damoiseau, R. (entomologiste forestier, Yangambi).
Decelle, J. (phytopharmacien, Yangambi).
Dessart, P. (entomologiste, Yangambi).
Dineur, P. (entomologiste, Gandajika).
Fassi, B. (mycologiste, Yangambi).
Foucart, G. (entomologiste, Rubona).
Goormans, C. (entomologiste, Mulungu).
Tas, R. N. (phytopharmacien, Yangambi).
Vanderweyen, A. (mycologiste, Yangambi).

Les chefs de la Division furent successivement : Ghesquière (1937-1939), Steyaert (1939-1946) et Buyckx (1954-1957).

Un virologue, un mycologiste et deux entomologistes effectuent en ce moment des stages avant d'entamer leur carrière congolaise.

Certains s'étonnèrent de voir les végétaux cultivés, qu'ils soient indigènes ou introduits, en butte à tant d'ennemis, alors qu'à l'état naturel ils paraissent sains. Dans la nature, les plantes se trouvent dans un milieu répondant à leurs exigences et les vissicitudes se limitent à une lutte entre sujets mieux développés supplantant les plus faibles. Par contre la création de grandes plantations a pour résultat de grouper un grand nombre d'individus d'une même espèce et ce souvent dans des conditions inadéquates à un développement normal d'où une susceptibilité plus grande à être atteints. D'autre part, la sélection, en créant des lignées à plus grand rendement, ne s'obtient habituellement qu'au détriment de la résistance.

Les buts poursuivis par les phytopathologistes sont :

1) Connaître les maladies cryptogamiques et les insectes nuisibles à l'agriculture et établir un catalogue de ces déprédateurs. Les recherches ont déjà permis de déceler et de décrire les principaux fléaux des cultures congolaises. L'inventaire des champignons a fait l'objet de l'ouvrage de Fred Hendrickx „Sylloge fungorum congensium".

La faunestique des insectes est tellement copieuse qu'elle ne pourra ètre établie que par un groupe de chercheurs. Les insectes ennemis des essences forestières sont cependant assez bien connus grâce à Mayné, chef de la section des xylophages de la commission d'étude des bois du Congo belge, et à ses collaborateurs.

2) Etudier les fongicides et insecticides spécifiques des cryptogames et insectes nuisibles.

3) Etudier les parasites naturels capables de contrôler les brusques multiplications d'insectes nuisibles. La méthode biologique qui donne parfois des résultats surprenants, exige outre une connaissance approfondie des insectes, une tenace patience d'observation de la part du biologiste.

4) Préserver les cultures contre l'envahissement des parasites soit autochtones, soit importés; tâche ingrate exigeant de la conscience professionnelle, du bon sens et beaucoup de psychologie.

5) Rechercher, en collaboration avec les sélecteurs, des variétés résistantes à leurs principaux ennemis.

6) Il est de plus nécessaire de prendre des mesures pour empêcher le transport de plantes ou de graines malades, d'une

région à une autre. Car les parasites ne sont pas seulement dangereux pour la culture en cours, mais également pour les cultures suivantes et les plantations voisines ou même éloignées.

Contrairement aux maladies de l'homme, la plupart des maladies des plantes ne s'extériorisent qu'au moment où les lésions sont telles que le sujet est irrémédiablement condamné. Aussi faut-il mieux prévenir les déprédateurs en ne cultivant que des variétés résistantes, en ne plantant que dans des gîtes adéquats et en appliquant des méthodes culturales assurant un développement normal des plants ou, le cas échéant, en limitant la prolifération du parasite. Ceci peut être obtenu en détruisant les organes de reproduction, en supprimant les individus ou parties d'individus atteints et en les incinérant, en stérilisant ou détruisant des substrats éventuels, telles que souches, bois mort etc. La désinfection de la sole ayant porté une plante malade s'impose. Le soleil a une action remarquable pour la destruction des germes pathogènes; la désinfection chimique au moyen de produits à base de D.D., parathion, aldrine, dieldrine etc. est également utile. Les éléments servant à la multiplication des plants : semences, tubercules, jeunes plants, doivent également être mouillés et désinfectés.

La désinfection externe des semences a sa raison d'être vis-à-vis des parasites dont les éléments reproducteurs gîtent dans les anfractuosités de la surface de ces semences. Cette opération se fait par trempage, par poudrage ou par vaporisation. Les sels de cuivre (sulfates ou carbonates), le formol, les sels de mercure, le soufre sont employés en l'occurence contre les champignons, et le D.D.T., le lindane, les pyréthrines etc. contre les insectes.

Les applications préventives sur les plants en croissance consistent dans l'aspersion, le poudrage ou le badigeonnage d'organes sur lesquels on prévoit le développement d'ennemis animaux ou végétaux. Les sels de cuivre et le soufre sont employés contre les champignons et les produits à base de D.D.T., H.C.H., pyrèthrines, endrine, parathion, etc. contre les insectes. Parfois l'on a recours à des traitements curatifs, tel que curetage de chancre suivi d'un pansement avec un produit antiseptique. Quant à la chimiothérapie interne, elle est à ses débuts. Les produits systémiques sont à la source de résultats prometteurs.

Un planteur qui entoure sa plantation de soins culturaux qui respectent les exigences écologiques de la culture a beaucoup de chances de ne connaître qu'un nombre restreint de parasites dont il viendra facilement à bout. On veut parler de l'amélioration physique et chimique du sol, de la propreté, de la plantation et de l'entretien des plants.

Les origines physiologiques de certaines maladies sont à rechercher dans l'état du sol, qui peut être trop sec ou trop humide, avoir des couches impénétrables ou toxiques pour les racines, être

déficient au point de vue des éléments fertilisants, soit à une ambiance inadéquate, défaut ou excès d'ombrage, etc.

A l'heure actuelle le résultat des activités des entomologistes et des mycologistes est loin d'être négligeable, tant au point de vue de la connaissance des parasites qu'au point de vue des moyens de lutte préconisés.

Si l'écologie et l'éthologie des parasites ont fait l'objet de nombreuses observations, ce n'est cependant qu'à l'issue de la deuxième guerre mondiale lorsque les premiers insecticides de synthèse : D.D.T. et H.C.H. apparurent en quantité suffisante sur les marchés et que les appareils pour traitements, poudreuses, pulvérisateurs et atomiseurs eurent atteint un degré suffisant de perfectionnement, que la lutte contre les ennemis des plantes prit un réel développement.

III. — La suite de cette conférence exposera les résultats obtenus dans la lutte contre les principaux ennemis des cultures pratiquées au Congo belge.

La Division de Phytopathologie et d'Entomologie agricole a étudié les méthodes à mettre en œuvre pour lutter contre les principaux ennemis des cultures pratiquées au Congo belge. Ces travaux ont été effectués en collaboration non seulement avec les Divisions agronomiques intéressées mais encore avec les diverses firmes chargées de la vente des pesticides et d'appareils d'épandage, ainsi qu'avec les planteurs, les sociétés agricoles et les agriculteurs autochtones.

L'Institut a apporté son assistance technique aux travaux de désinfection généralisée qui ont été effectués dans certaines zones cotonnières du Sud et du Nord avec la collaboration du Service de l'Agriculture et du Comité cotonnier Congolais.

Les phytopathologistes ont aussi collaboré aux campagnes de désinfection des caféiers de Rutshuru et du Ruanda-Urundi, ainsi qu'a la lutte contre *Celerio nerii*, parasite du quinquina dans le Kivu-Sud.

Nous allons passer rapidement en revue les réalisations des chercheurs spécialisés de l'INEAC dans le domaine de la lutte au moyen de pesticides contre quelques ennemis des cultures : cotonnier, caféier, hévéa, palmier à huile, pyrèthre, tabac et bananier. On ajoutera aussi quelques mots au sujet de la protection des produits enmagasinés et des peuplements forestiers, sans oublier les substances phytocides.

Le cotonnier étant une plante importée au Congo, du moins l'espèce *Gossypium hirsutum* qu'on y cultive, connait assez bien d'ennemis parmi lesquels les insectes sont plus nombreux et plus nocifs que les champignons. Ces déprédateurs ont été étudiés et ont fait l'objet de plusieurs publications.

Parmi les insectes, une importance particulière doit être réservée aux hémiptères : *Paurocephala gossypii,* agent de la psyllose, aux punaises : *Dysdercus* spp., aux capsides : *Lygus vosseleri* et *Helopeltis schoutedeni,* aux pentatomides : *Calidea dregei, Nezara* spp., *Aspavia armigera,* agents de la stigmatomycose, sans oublier le groupe très important des lépidoptères au sein duquel les noctuides : *Earias* spp., *Heliothis armigera, Diparopsis castanea* et les tinéides : *Platyedra gossypiella* et *Pyroderces simplex* revêtent un certain intérêt.

La culture du cotonnier est pratiquée presque exclusivement par les Congolais. C'est au Maniema que débuta la première campagne de désinfection qui se pratique encore chaque année. Le *Lygus vosseleri,* agent de la frisolée, apparaît régulièrement et provoque des dommages importants dans cette région où lui succèdent les pentatomides et enfin les chenilles citées précédemment.

En 1950 et en 1951, malgré une intense propagande cotonnière, les planteurs faisant preuve d'une réelle bonne volonté, les productions n'ont atteint respectivement que 7.600 et 8.100 tonnes de coton-graines. En 1952, la Cogerco ou Commission de gérance de la caisse de réserve cotonnière mit à la disposition des planteurs 200 tonnes de D.D.T. à 10%. Ce produit fut appliqué, par poudrage à raison de 15-20 kg à l'hectare, en un seul passage. Environ 80% des emblavures furent traitées, soit 10 à 12.000 hectares et la production atteignit 15.100 tonnes de coton-graines.

Parallèlement, en divers endroits du Maniema, des essais comparatifs d'insecticides ont été effectués par des entomologistes de l'INEAC, ce qui a permis de choisir le produit convenant le mieux pour la désinfection des cotonniers, tout en observant qu'il n'existe aucun insecticide efficace simultanément contre tous les ennemis du cotonnier, que l'on puisse recommander, dans tous les cas, en milieu rural. Les mélanges insecticides à utiliser dépendent de la faunule entomologique à contrôler.

Contre *Lygus vosseleri* les hydrocarbures chlorés se sont classés selon l'échelle d'efficacité décroissante suivante : endrine, dieldrine, lindane, heptachlor, chlordane, D.D.T., toxaphène, hexachloroendométhylène bicycloheptène bis sulfite.

Parmi les esters phosphoriques, le parathion vient en tête, au point de vue de l'efficacité, suivi par le malathion et le diazinon.

Contre *Paurocephala gossypii,* l'isomère gamma du H.C.H., le toxaphène, le chlordane, l'heptachlor, la dieldrine, l'endrine, l'hexachloroendométhylène bicycloheptène bis sulfite, le parathion et son homologue méthylé, le malathion, le diazinon et le chlorhion sont très actifs. Le D.D.T. et l'aldrine se montrent légèrement inférieurs.

Contre *Hemitarsonemus lactus* les hydrocarbures chlorés sont

efficaces, alors que les esters phosphoriques sont inopérants.

Le toxaphène et l'endrine, aux doses respectivement de 3 et de 0,4 kg de matière active à l'hectare sont plus efficaces que 1,5 kg de D.D.T. à l'hectare.

L'effet résiduel des traitements contre le *Lygus* est de très faible durée 3 à 5 jours au maximum; elle est encore plus courte pour les poudrages.

Les traitements contre *Helopeltis* avec des produits stables comme le toxaphène et l'endrine gardent encore la moitié de leur efficacité première sur les adultes après une semaine.

D'autres travaux ont été conduits avec la collaboration de la Division de Mécanique agricole en vue de mettre à l'épreuve des appareils d'épandage de capacités et de principes divers, d'en vérifier le fonctionnement mécanique et technique et d'en déterminer les modalités d'utilisation en milieu rural. L'utilisation des poudreuses à fonctionnement manuel et à moteur portés à dos d'hommes, est préconisée pour la désinfection des cultures cotonnières en milieu coutumier. Les poudreuses à moteur à grosse puissance ne sont avantageuses que pour autant qu'elles soient montées sur un véhicule automobile, capable d'emporter également une réserve de produit suffisante pour annuler les temps morts, et qu'elles aient une puissance de diffusion latérale atteignant, 50 m au minimum.

En 1953, 16.000 hectares ont été traités à nouveau au moyen d'une poudre contenant 10% de D.D.T. Cette fois à raison de deux applications utilisant, au total, 35 kg à l'hectare. La production atteint 14.000 tonnes de coton-graines.

En 1954, à nouveau 16.000 hectares ont été poudrés mais au moyen d'un nouvel insecticide : le toxaphène et la production a été de 15.200 tonnes de coton-graines.

Une superficie analogue fut traitée en 1955, par une poudre contenant du toxaphène, du D.D.T. et du soufre. La récolte dépassa 14.000 tonnes de coton-graines.

Enfin, en 1956, 19.000 hectares ont produit 17.000 tonnes de coton-graines, après avoir subi un double poudrage au moyen d'un produit contenant du toxaphène et du D.D.T.

On peut donc conclure, qu'au Maniema, la désinfection des cotonniers a augmenté la production de 80 à 100% suivant les années.

Les résultats obtenus dans les autres régions cotonnières sont moins spectaculaires. Cela est dû à ce que l'incidence du *Lygus* y est moins élevée ou que cet insecte n'apparaît pas avec la même régularité. Cela peut provenir aussi du fait que le groupe des ravageurs est constitué principalement de *Helopeltis*, d'acariens ou de „bollworms".

Pour la première fois en Uele, des traitements chimiques sur

grande échelle ont été appliqués sur cotonniers, en 1954, contre *Helopeltis*.

Lors du premier poudrage environ 1.400 hectares ont été traités, approximativement 20 kg à l'hectare de poudre insecticide ont été utilisés.

En principe, 90% des emblavures ont été traitées avec du D.D.T. à 10% et le reliquat avec un mélange : toxaphène à 10% — D.D.T. à 5%.

Des comptages, effectués à l'issue du premier poudrage, ont montré qu'en général une seule application était suffisante. Un deuxième traitement ne s'est montré nécessaire que pour moins de 60 hectares.

En Territoire de Faradje un poudrage a été exécuté contre le *Lygus* sur environ 200 hectares. En Ubangi, 1.700 hectares ont été soumis à deux poudrages, cette fois au moyen de D.D.T. à 10%, utilisé a raison de 20 kg à l'hectare.

Dans le Sud de cette région, la lutte contre *Helopeltis* au moyen de D.D.T. ou de toxaphène, décuple la production.

En 1956, en Uele, environ 5.300 hectares furent traités, à raison de 17 — 18 kg à l'hectare, les uns au moyen d'une poudre contenant 10% de D.D.T., les autres avec une poudre dosant 20% de toxaphène.

De très beaux résultats ont été obtenus dans la vallée de la Ruzizi où cette fois l'endrine fut utilisée en poudrage par avion en fin de campagne, à raison de 360 g de matière active à l'hectare, dans le but de lutter contre les chenilles : *Heliothis armigera* et *Earias* spp.

Cette année vraisemblablement, 6.000 à 7.000 hectares de cotonniers seront traités par avion, en fin de campagne, au moyen d'endrine.

Contre les termites, ennemis des tiges des cotonniers, le traitement suivant s'est montré très efficace : dégager la base du plant et enduire à la main, le collet et la base de la tige, de poudre de H.C.H. à 10%, à raison de 4 à 5 g par plant. D'autre part, divers traitements ont montré qu'un épandage en surface du sol de poudre de dieldrine à 2,5 %, à la dose de 75 kg à l'hectare, suivi d'un léger enfouissement au râteau exécuté avant le semis, assure une protection complète des cotonniers, contre les attaques des fourmis blanches, pendant toute la durée de la campagne.

La destruction des termitières au moyen de 500 cc d'un mélange à parties égales de dichlorpropène et de dichlorpropane, est une opération de simple routine qui n'a enregistré jusqu'ici aucun échec.

Enfin, dans certaines régions le ,,Shimbu'' dégâts causés par l'association d'un coccide, qui peut être voisin du genre *Gueriniella* ou appartenir au genre *Pseudococcus*, de fourmis appartenant aux

genres *Camponotus* et *Crematogaster* et d'un champignon, *Macrophoma phaseoli*, est susceptible de causer des dommages importants, non seulement au cotonnier, mais encore au maïs et à l'arachide.

Il ressort de l'ensemble des essais réalisés que :

— Les insecticides à base de dieldrine, de chlordane et d'aldrine ont une action très nette sur l'intensité des attaques de ,,shimbu'' lorsqu'ils sont appliqués au sol sous forme de poudre à la dose minimum de 1.250 g de produit actif à l'hectare pour la dieldrine et l'aldrine et de 2.000 g pour le chlordane. Il est à signaler que ces produits pulvérisés, même à forte dose sur les plantes, n'ont eu aucune action phytotoxique.

— La parathion, appliqué sous forme de poudre, à la dose de 2.500 g à l'hectare n'exerce pas une action suffisante.

— La désinfection du sol au moyen de poudre s'est montrée d'application très aisée et peut être pratiquée sans difficulté.

— L'effet des désinfections se continue pendant au moins un an. La réinfection se produit toujours par les bords et est centripède. La persistance de l'efficacité est cependant plus ou moins proportionnelle à l'étendue des zones traitées.

En milieu autochtone, seule l'application localisée aux endroits infectés serait économique. Malheureusement, si la détection approximative des zones atteintes est possible avant la culture, les perturbations provoquées à la faune du sol par les labours ont des répercussions sur la répartition des attaques de ,,shimbu''.

Les fourmis paraissent très sensibles au travail du sol. Il a été constaté que le labour à la charrue diminuait sérieusement les dégâts de ,,shimbu''. Cependant certaines années (en 1956, particulièrement), des réinfections provenant des bordures des champs peuvent être à la fois importantes et rapides. En milieu rural, la mécanisation de la culture seule ne résoudra donc pas d'une façon satisfaisante le problème de la protection des cultures contre le ,,shimbu''.

A l'avenir, il conviendra d'étudier plus spécialement l'efficacité et l'action de fertilisants contenant les proportions désirées d'insecticides. Il semble que cette voie donnera de bons résultats. Actuellement, les essais d'engrais réalisés par l'INEAC dans les zones d'influence des Stations de Gandajika et de Kibangula se font sur terrains désinfectés par application de poudres, à base de dieldrine ou de chlordane. Les résultats de cette méthode sont excellents, les pourcentages d'occupation des plants cultivés dans les essais traités à raison de 100 kg de poudre dosant 2,5 % de dieldrine dépassent 90% en condition normale de culture même dans des terrains très fortement infectés.

Parmi les maladies qui affectent le cotonnier il fait citer : l'anthracnose due à *Colletotrichum gossypii*. Ce champignon qui

atteint diverses parties de la plante est surtout fréquent sur les capsules.

Le Wilt est dû à *Fusarium vasinfectum*, originaire des Etats-Unis. L'infection se fait par le sol, d'où le parasite pénètre dans les radicelles ou dans les racines blessées.

La lutte est axée vers la recherche de variétés résistantes, ce qui a préalablement exigé la mise au point d'une technique d'inoculation applicable aux nombreuses lignées étudiées.

La bactériose due à *Xanthomonas malvacearum* se manifeste d'abord sur les feuilles qui montrent des taches anguleuses, noirâtres, ensuite sur le péricarpe des capsules, les tiges peuvent aussi être atteintes.

Cette maladie est particulièrement dommageable dans le Nord de l'Ubangi et dans la vallée de la Ruzizi, où l'étude des méthodes de lutte vient d'être entamée.

Les Caféiers

Coffea robusta

Durant ces dernières années, les cours élevés atteints par le café et l'intensification de la culture du caféier Robusta au Congo belge ont provoqué un rapide développement des traitements phytosanitaires des plantations. Parmi les principaux traitements phytopharmaceutiques étudiés et actuellement préconisés par l'INEAC citons :

I. Traitements insecticides

Lutte contre les chenilles défoliantes.

Ces chenilles appartiennent à trois espèces principales :

La pyrale du caféier, *Dichocrocis crocodora*;

L'épicampoptère, *Epicampoptera* (Syn. *Metadrepana*) spp;

Le sphynx du caféier, *Cephonodes hylas*.

Depuis l'abandon des arsenicaux, toxiques pour certaines lignées du caféier Robusta, le D.D.T. à la dose de 2-2,5 kg à l'hectare de matière active est l'insecticide le plus utilisé contre ces chenilles. Il peut être épandu par pulvérisation ordinaire, par nébulisation ou par poudrage. L'endrine à la dose de 250-300 g de matière active à l'hectare convient également mais sa toxicité pour l'homme lui fait souvent préférer le D.D.T. La pulvérisation ordinaire nécessite de 600 à 1.200 litres de liquide à l'hectare selon le développement des caféiers. La quantité épandue par nébulisation est fonction de l'appareil utilisé; on peut souvent la réduire à une centaine de litres à l'hectare.

La préparation des bouillies se fait à partir de poudres mouillables ou de solutions émulsionnables; toutefois seules ces dernières peuvent convenir aux nébulisations.

Les bouillies doivent être additionnées d'un bon mouillant adhésif à la concentration préconisée par le fournisseur, soit généralement 0,1 à 0,2 %. Le traitement contre les chenilles peut également être effectué par poudrage de 15 à 30 kg à l'hectare d'un produit à 10% de D.D.T.

Les insecticides sont à appliquer le plus tôt possible dès l'apparition des chenilles.

Lutte contre les chenilles mineuses des feuilles.

Plusieurs espèces de chenilles vivent dans des galeries creusées entre les deux épidermes des feuilles du caféier. Les plus communes appartiennent au genre *Leucoptera*.

Parmi les insecticides expérimentés, seul le parathion, à la dose de 500 g de matière active à l'hectare, a causé une mortalité satisfaisante des chenilles dans leurs galeries. Un bon mouillage des deux faces de la feuille est requis et, seule, la pulvérisation ordinaire à raison d'au moins 1.000 litres d'eau à l'hectare est conseillée comme méthode de lutte directe.

Les spécialités commerciales à base de parathion vendues au Congo contiennent généralement 20, 46,7 ou 60% de matière active. La quantité de produit commercial à utiliser doit être calculée de manière à incorporer 50 g de matière active à 100 litres d'eau.

Lutte contre le scolyte des grains, ,,Stephanoderes hampei''.

La lutte contre le scolyte des grains a fait l'objet de nombreuses recherches ces dernières années. De multiples essais en laboratoire ont permis de classer les insecticides dans l'ordre suivant de leur efficacité *in vivo* :

endrine, dieldrine, lindane, aldrine, parathion, H.C.H., toxaphène, malathion, D.D.T. et chlordane. Les essais réalisés en plantation avec les quatre produits retenus ont fourni un classement identique.

Deux matières actives se sont donc montrées très efficaces contre cet insecte : l'endrine et l'isomère gamma de l'hexachlorcyclohexane, soit sous forme de H.C.H. technique, soit sous forme pure (lindane). L'isomère gamma doit être utilisé à raison de 750 g, l'endrine à la dose de 500 g de matière active à l'hectare.

L'addition d'un mouillant-adhésif s'impose. Les traitements ne sont actifs que sur les femelles mobiles du *Stephanoderes*, qui seules peuvent entrer en contact avec les dépôts. Il faut donc appliquer les insecticides à l'époque de pullulation maximum des

femelles. Ce moment se situe après la période de forte récolte lorsque les arbres ne portent plus ou presque plus de drupes convenant au développement du couvain.

Dans les régions à saison sèche marquée, où la production du caféier Robusta est nettement cyclique, une seule application exécutée à l'époque optimum suffit pour obtenir un contrôle satisfaisant. Par contre, en région plus équatoriale où les caféiers portent des fruits à tous les stades de développement pendant une plus longue période de l'année, il faut appliquer un produit insecticide possédant un effet résiduel d'une durée supérieure à celle du cycle de développement du scolyte (25 à 30 jours). Deux applications d'endrine à 18-20 jours d'intervalle ou trois applications d'isomère gamma du H.C.H. (lindane) à 10-12 jours d'intervalle permettent de réaliser un tel traitement. Les résultats enregistrés avec l'endrine se montrent généralement supérieurs à ceux obtenus avec le lindane. L'intérêt du traitement à l'endrine est encore augmenté par sa bonne efficacité sur les chenilles défoliantes. Sa forte toxicité sur l'homme ne doit pas être perdue de vue lors des traitements et toutes précautions utiles doivent être prises.

L'effet résiduel des insecticides a été étudié au cours d'un essai de lutte contre *Stephanoderes hampei*. La poudre mouillable de H.C.H. perd la moitié de son efficacité en 3-5 jours.

Un effet résiduel supérieur à 50 % d'efficacité se maintient pendant une semaine dans le cas du lindane en solution émulsionnable à 0,1%, pendant trois semaines dans le cas de la dieldrine, à la même dose, et pendant 16-17 jours dans le cas de l'endrine en solution émulsionnable à 0,05 %.

Lutte contre le borer du tronc ,,Bixadus sierricola''.

Deux méthodes de lutte peuvent être utilisées contre cet ennemi. La première, uniquement curative, consiste à injecter dans les galeries préalablement dégagées, un insecticide agissant par ses vapeurs. L'isomère gamma du H.C.H. technique ou lindane, en émulsion ou en suspension et à la concentration de 0,5%, convient très bien et doit être préféré au paradichlorobenzène, au sulfure de carbone ainsi qu'aux autres produits anciennement préconisés. La solution insecticide sera facilement injectée au moyen d'une burette à huile. Les orifices des galeries doivent être obturés après le traitement au moyen d'un mélange d'argile, d'huile de palme et de goudron.

La deuxième méthode de lutte permet, non seulement, de détruire les larves mais, également, de protéger les arbres contre les attaques ultérieures du borer. Le procédé consiste dans le badigeonnage des troncs au moyen d'une émulsion de dieldrine à 0,5% de matière active. Cette solution peut être préparée par

mélange d'un litre de dieldrine émulsionnable à 15% et de 29 litres d'eau ou par incorporation d'un litre de dieldrine émulsionnable à 20% dans 39 litres d'eau.

Le badigeonnage est exécuté au moyen d'un pinceau ordinaire sur toute la partie ligneuse des troncs et des grosses branches. La quantité d'émulsion nécessaire varie, selon la taille des caféiers, entre 10 et 50 litres à l'hectare. Le traitement sera de préférence exécuté pendant la saison sèche. Dans les plantations très atteintes, on l'applique au moins deux fois par année.

La dieldrine étant assez toxique, toutes précautions utiles doivent être prises lors de l'emploi. La dilution du produit concentré sera exécutée par un personnel averti. Après le traitement, les travailleurs ne pourront ni manger ni fumer avant de s'être savonné les mains.

Lutte contre les fourmis.

Plusieurs espèces de fourmis se rencontrent sur caféier Robusta :

— La fourmi charpentière, *Atopomyrmex mocquerysi*;
— Les fourmis cartonnières de la tribu des *Crematogastrini*;
— Les fourmis tisserands, *Oecophylla* sp;
— La fourmi urticante, *Macromischoides aculeatus*;
— La fourmi venimeuse, *Macromischoides africanus*.

Toutes peuvent être détruites au moyen de pulvérisations à base de chlordane à la dose de 0,5 % de matière active. Il suffit généralement de repérer les arbres envahis et de traiter abondamment les nids. Le contenu d'un pulvérisateur de 18 litres permet de détruire près de 200 nids. L'aldrine, la dieldrine et l'isomère gamma du H.C.H. à la concentration de 0,1% donnent également de bons résultats, l'endrine est moins efficace. Des poudres à base de chlordane, de dieldrine (à 2%) et d'aldrine (à 2,5 %) ont eu une certaine efficacité dans la lutte contre les fourmis.

Lutte contre les coccides ou cochenilles.

De nombreuses espèces de coccides peuvent se rencontrer sur les feuilles et rameaux des caféiers. Ces insectes, à structure fortement simplifiée et peu mobiles, sont très protégés du fait qu'ils sont littéralement collés au végétal. La couche de cire, qui les recouvre fréquemment, constitue en outre un autre obstacle à l'action des insecticides.

La seule technique efficace de lutte chimique contre ces ennemis consiste à pulvériser de l'huile blanche ou du parathion ou plus généralement le mélange de ces deux produits (oléoparathion). La pulvérisation doit assurer un bon recouvrement : il faut traiter jusqu'à écoulement de la bouillie (1 à 2 litres par arbre).

L'adjonction d'un bon mouillant est indispensable. L'huile blanche s'utilise en principe à 1 % et la parathion à 0,05 % de matière active, toutefois il faut dans certains cas doubler ces concentrations. Plusieurs applications successives sont généralement nécessaires.

Lutte contre ,,Habrochila placida".

Cet Hémiptère Tingide, voisin de *Habrochila ghesquierei* du caféier d'Arabie, vit comme lui à la face inférieure des feuilles. Il est généralement tenu en échec par un Capside prédateur *Appolodotis distanti*.

Des pullulations de *Habrochila* ont été signalées à plusieurs reprises au cours de ces dernières années. Dans certains cas, ces multiplications anormales ont eu comme cause un déséquilibre biologique provoqué par l'utilisation du D.D.T. dans les caféières, cet insecticide détruisant le prédateur très mobile sans nuire pour autant à *Habrochila placida* insecte résistant au D.D.T. et peu mobile.

Les esters phosphoriques permettent de contrôler cet insecte. Le parathion doit s'utiliser à raison de 250 g, le malathion à 500 g et le diazinon à 400 g de matière active à l'hectare. Il convient de mouiller abondamment la face inférieure des feuilles.

Dans le groupe des insecticides chlorés, l'isomère gamma du H.C.H. et l'endrine aux doses utilisées pour le contrôle du *Stephanoderes* sont actifs.

II. Traitements fongicides

Des traitements fongicides sont rarement appliqués dans les plantations de caféiers Robusta. Ils ont d'ailleurs fait l'objet, jusqu'à présent, de moins de recherches que les traitements insecticides.

Traitements contre la fonte des semis.

Il n'est pas rare de constater, dans les germoirs de caféiers, une fonte plus ou moins généralisée des semis causée par *Rhizoctonia solani*.

On évite ces dégâts par incorporation au sol des germoirs d'un fongicide organo-mercurique pour traitements liquides, notamment du chlorure éthyl-mercurique. Le produit sera épandu par arrosage à la dose de 10 g, soit 2 litres de solution à 0,5% au mètre carré. La même solution peut être utilisée pour désinfecter les semences par immersion avant le semis. Les graines doivent être convenablement séchées après le traitement.

Comme méthode curative contre la fonte des semis, on peut recourir à des pulvérisations ou arrosages de produits cupriques à 1% ou de produits organo-mercuriques pour traitements liquides utilisés à des concentrations plus faibles (0,2%).

Traitements contre diverses maladies foliaires.

Il est parfois nécessaire de lutter contre diverses maladies produisant des macules foliaires, surtout en pépinière. Les fongicides cupriques donnent généralement de bons résultats. On utilisera l'oxychlorure de cuivre 50% à 0,5%, le sulfate basique de cuivre à 0,5 % et l'oxydule de cuivre à 0,3%.

Traitements contre la maladie rose due à „Corticium salmonicolor".

Il est avantageux de faire précéder la taille des rameaux atteints par *C. salmonicolor* de la pulvérisation d'un produit cuprique ou d'un composé cuivre-zinèbe à 0,5%. En cas de forte attaque, le traitement complet des parcelles atteintes peut s'imposer.

Traitement des plaies de taille et des blessures.

Les plaies de taille et les blessures, qui peuvent être la porte d'entrée à diverses affections du caféier, sont traitées au moyen d'un antiseptique cicatrisant de préférence insoluble. Il n'en manque pas dans le commerce; le goudron végétal peut convenir.

Caféier d'Arabie

Traitements insecticides

La période de janvier à fin avril 1937 fut consacrée à la désinfection des caféiers des environs de Rutshuru pour lutter contre les *Antestiopsis*, *Lygus* et *Volumnus*, tous trois responsables de la castration des fleurs.

Les *Antestiopsis* spp. provoquent aussi la pourriture du pédoncule, l'augmentation du pourcentage de graines flottantes, l'apparition de graines dont certaines sont piquées et d'autres noires. Des balais de sorcière résultent aussi des piqûres de cet hémiptère.

Dans chacune des plantations, deux applications ont été effectuées. La poudre de pyrèthre avait été mélangée immédiatement avant l'emploi avec de la cendre de bois dans la proportion, de une partie de poudre de pyrèthre à 1,30% de pyréthrines totales pour six parties de cendres en volume. Ces pyréthrages, amenèrent des floraisons abondantes, telles qu'on n'en avait plus vu depuis des années. Au Ruanda-Urundi, comme au Kivu les plantations de caféiers d'Arabie ont été traitées régulièrement

d'abord avec de la poudre de pyrèthre ensuite avec un ou plusieurs insecticides de synthèse, tels que D.D.T., H.C.H., parathion. La répétition des traitements à base de D.D.T. a indirectement provoqué une augmentation de l'incidence de *Habrochila ghesquierei*.

Antestiopsis est susceptible *in vitro* à un grand nombre d'insecticides classés ci-après dans l'ordre d'efficacité décroissante : parathion, dieldrine, diazinon, endrine, aldrine, malathion, lindane, D.D.T., isolan, dicyclopentanediène chloré, chlordane, toxaphène, nicotine.

Touchant *Habrochila* l'échelle décroissante suivante a été établie : parathion, diazinon, lindane, malathion, dieldrine, endrine chlordane, D.D.T., toxaphène. Le pyrèthre, le D.D.T. et le H.C.H. sont inefficaces dans la lutte contre *Habrochila placida*.

Jusqu'ici, seuls les esters phosphoriques ont donné des résultats positifs. Leur action est rapide et peut subsister 4 à 6 jours.

Pour le parathion, l'action la plus rapide s'obtient avec des solutions d'une concentration en volume de 0,06% et plus dont l'efficacité atteint 100%, 3 à 6 heures après le traitement.

A la dose de 0,04%, le produit agit plus lentement; son effet est de 95% après 3 jours pour autant toutefois qu'il ne pleuve pas durant cette période. L'emploi de concentrations à 0,04% ou plus faibles n'est donc pas à conseiller en saison des pluies; une forte averse, au cours des 12 heures qui suivent la pulvérisation, ne permettant plus un contrôle suffisant. De même, le recours à des doses supérieures à 0,07% ne se justifie pas.

L'attention doit être attirée sur le fait que les conseils des fabricants, concernant les mélanges de parathion et de fongicides cupriques alcalins, doivent être observés scrupuleusement. On constate une diminution très nette de l'efficacité des pulvérisations lorsque les précautions prescrites n'avaient pas été respectées.

Les mélanges doivent être utilisés immédiatement après leur préparation et la concentration en produits actifs doit être augmentée de 30% environ.

Nombre et technique des pulvérisations.

Le nombre de pulvérisations à l'aide de produits à base d'esters phosphoriques doit être réduit au minimum.

Dans une caféière envahie par *Habrochila placida*, soumise à trois aspersions de parathion, espacées de quinze jours, on a constaté une attaque subséquente généralisée de diptères *Thriritrum* sp. et de *Thliptoceras octoguttale* sur les drupes.

A Mulungu, une parcelle de jeunes caféiers, traitée une seule fois au parathion contre *Habrochila placida*, fut envahie au cours du mois suivant la pulvérisation, par *Hoplandothrips bredoi* ou

thrips enrouleur. Ce derniet ne provoqua, à la même époque, que des dégâts minimes dans les parcelles environnantes.

Dans les plantations où l'emploi du parathion est fréquent, on enregistre de réels dommages causés par des insectes tels que *Epicampoptera andersoni* et *Parasa vivida* qui d'ordinaire n'existent qu'à l'état isolé et n'occasionnent pratiquement aucun dégât.

Il est probable que l'utilisation suivie des esters phosphoriques détruit l'équilibre biologique des biocénoses en détruisant également les parasites des ennemis du caféier.

De façons à éviter éventuellement de tels inconvénients, il y aurait lieu de procéder comme suit :

— Pratiquer, à la période la plus opportune pour les traitements, c'est-à-dire à la veille de la saison des pluies, août-septembre, une seule pulvérisation d'un insecticide à base d'ester phosphorique.
  Si dans les 20 jours qui suivent, on constate une réapparition de larves *d'Habrochila*, on effectue une deuxième pulvérisation.
— Dans le cas où une partie seulement de la plantation est infectée, on veillera, lors du traitement, à ce que les travailleurs ne disséminent pas l'insecte dans les parcelles indemnes.
  Il n'est pas rare, en effet, de trouver une vingtaine d'*Habrochila* adultes sur les vêtements d'une seule personne après la traversée d'une plage fortement atteinte.
— La pulvérisation doit viser à atteindre la face inférieure des feuilles et plus particulièrement celles de la base de l'arbre, où l'insecte est, en général, plus abondant que dans la couronne.
— Les parcelles sises dans les endroits humides feront l'objet d'une surveillance spéciale. Les foyers de conservation qui y seraient éventuellement découverts seront désinfectés durant la saison sèche. Le fait de la localisation très stricte d'*Habrochila* au cours de cette époque de l'année, pourrait permettre sa destruction et éviterait ainsi un traitement généralisé aux esters phosphoriques.

A Mulungu le retour aux pyréthrages durant plusieurs années a permis de vérifier que l'application antérieure continue d'insecticides à base de D.D.T. et de H.C.H. a rompu l'équilibre biologique et provoqué ainsi la pullulation d'*Habrochila placida*.

Vis-à-vis d'*Antestiopsis*, le produit mixte : D.D.T. à 0,1% de matière active-malathion à 0,05% de matière active paraît le plus intéressant. Son action en champ, contre *Habrochila* est satisfaisante bien que son efficacité immédiate soit plus faible que celle du mélange D.D.T. à 0,1% de matière active-malathion à 0,025% de matière active. Son effet atteint cependant 100%, trois semaines après le traitement.

D'autres essais de produits mixtes, cette fois à la base d'endrine et d'ester phosphorique ont mis en relief la similitude de leur

comportement avec celui des mélanges de D.D.T. et d'ester phosphorique. Cette étude présente un intérêt pratique relativement faible, car l'endrine, aux concentrations et doses utilisées contre *Stephanoderes hampei* peut assurer un contrôle complet de *Antestiopsis* et avoir une action insecticide très satisfaisante, sinon complète, contre *Habrochila*.

Les résultats obtenus en tenant compte des aspects de toxicité et d'altération de saveur, aboutissent à préconiser quatre formules pour le traitement des caféières en milieu rural : Le Lindane et les mélanges D.D.T.-Diazinon, D.D.T.-malathion ou D.D.T.-dimetan.

Dans les plantations européennes et sous surveillance, l'endrine peut remplacer le D.D.T. surtout si le *Stephanoderes* est présent. Le parathion pourrait également se substituer aux autres esters phosphoriques.

Depuis que les essais relatés ci-dessus ont été réalisés, un nouvel ester phosphorique, non toxique pour l'homme, est apparu : le chlorthion. Le mélange D.D.T.-chlorthion peut donc vraisemblablement être ajouté aux quatre formules conseillées ci-dessus.

Traitements fongicides

Le *Colletotrichum coffeanum*, agent de l'anthracnose, est particulièrement nocif sur les caféiers soumis à l'influence des vents froids nocturnes ou subissant des écarts brusques de température.

L'emploi des fongicides, contre ce champignon, est fréquemment décevant. Cela pourrait s'expliquer à la lumière des observations ayant révélé la présence d'une infection latente dans les fruits, les bourgeons floraux et déjà dans les tigelles.

Au Kivu le captane et le tuzet auraient cependant minimisés les dégâts du *Colletotrichum*.

Hévéa.

Des fourmis peuvent endommager le panneau de saignée. Il faudra d'abord localiser les nids situés dans le voisinage immédiat des hévéas endommagés, en suivant la colonne d'insectes portant de la nourriture entre les mandibules et retournant au nid. Quand ils sont repérés, on les dégage sommairement et on les pulvérise abondamment comme cela a déjà été dit précédemment.

L'hévéa souffre aussi de diverses maladies parmi lesquelles il faut citer : les pourridies, le brunissement de l'écorce, le chancre à raies noires et le chancre à taches.

Plus récemment l'oïdium a atteint une importance plus grande que celle qu'il avait acquise précédemment. Contre ce champignon il y a lieu d'adopter des méthodes de lutte préventive, soit par

emploi de clones d'hévéas résistants, soit par traitement chimique.

Dans la lutte chimique, le soufre s'est révélé suffisamment efficace depuis une trentaine d'années. Son action réside surtout dans le fait qu'il empêche la germination des spores du champignon; dès que celui-ci est parvenu à pénétrer dans une jeune feuille, le soufre n'a plus d'effet de protection. Il faut donc établir et maintenir une mince couche soufrée sur les feuilles aussi longtemps que celles-ci présntent une susceptibilité à la maladie, c'est-à-dire jusqu'au moment où les folioles atteignent 15 à 20 cm de longueur. Ces conditions demandent un traitement précoce, intensif et suivi. Le soufrage doit commencer lorsqu'on observe l'apparition des premières petites macules huileuses alors que 10% environ des nouvelles feuilles sont formées.

Le soufre en poudre s'utilise à raison de 12 à 15 kg à l'hectare. Les poudres doivent contenir au minimum 95% de soufre; celles dont 95% au moins des particules passent par un tamis de 325 mailles au pouce carré donnent les meilleurs résultats. La dose peut être diminuée de 10% environ, si on utilise des spécialités commerciales dites ,,soufre micronisé'' à très grande finesse.

Un traitement bien suivi comprend au moins quatre applications successives à sept-dix jours d'intervalle, leur nombre étant déterminé par la vitesse de croissance des nouvelles feuilles. On peut considérer que le principal risque de pertes est évité lorsque 80% environ des feuilles ont dépassé le stade sensible.

Le poudrage doit être exécuté avec grand soin, par temps calme, tôt le matin lorsque les feuilles sont encore mouillées par la rosée.

Les poudreuses à moteur doivent être suffisamment puissantes pour projeter le nuage de produit jusque dans la partie supérieure de la couronne.

Habituellement le soufre est appliqué par poudrage, mais comme on dispose actuellement de soufres colloïdaux mouillables, la pulvérisation de ces produits, qui agissent plus efficacement et de façon plus durable, peut être envisagée lorsque le dispositif de plantation permet le passage des appareils.

Elaeis.

Des méthodes de lutte ont été mises au point pour lutter contre les coccides et les fourmis dans les plates-bandes de prépépinières, contre les sauterelles et criquets en pépinière, contre *Pimelephila ghesquierei* et les *Temnoschoita,* en pépinière et en plantation.

Contre la pyrale, le parathion, utilisé à la dose de 10 g pour 100 litres d'eau, a été plus efficace que 2.500 g de D.D.T. pour 100 litres d'eau. Les pulvérisations de parathion à 0,02% et d'endrine à 0,1% se sont révélées efficaces.

Contre le *Temnoschoita* il est recommandé de procéder, à l'occasion de la première récolte, à une toilette sommaire des plants et à un poudrage à l'H.C.H.

Ce dernier doit s'effectuer en deux fois, à trois semaines d'intervalle. L'ajutage de la poudreuse doit être flexible pour permettre une manipulation plus aisée entre les feuilles des palmiers. La poudre doit être appliquée dans la couronne et à sa base, il est inutile de poudrer les feuilles.

Le palmier à huile peut être victime des pourridiés, du Wilt et de plusieurs autres ennemis.

Une pourriture bactérienne est susceptible de déprimer les pourcentages de germination des graines, on y obvie en traitant ces semences à l'aide d'une solution de composés organomercuriques.

Contre *Cercospora elaeidis*, agent de la cercosporiose du palmier à huile en pépinière, tous les fongicides cupriques provoquent des brûlures du feuillage, dès la première application.

Parmi les autres produits : le karathane a eu, a partir de la sixième ou de la septième application, une action phytotoxique.

Le captane, le zirame et le mésulfan se classent en tête des fongicides éprouvés. Au point de vue rythme d'application, pour le captane, les meilleurs résultats ont été obtenus par des traitements hebdomadaires.

Pyrèthre

Quoique produisant un insecticide important le pyrèthre n'échappe pas aux déprédateurs, le principal ennemi est actuellement un champignon : *Ramularia bellunensis*.

Les résultats expérimentaux obtenus permettent d'envisager la lutte contre *Ramularia* par l'application de captane. Ce programme de lutte, modifiable suivant les conditions locales, pourrait en première approximation être fixé comme suit : application tous les quinze jours d'une pulvérisation de captane additionnée d'un adhésif convenable. La concentration à utiliser serait de 0,30% dans le cas d'un produit à 50% de matière active. On utiliserait 600 litres à l'hectare par application dans le cas d'une plantation à écartement de 40 × 60 cm.

L'efficacité obtenue permettrait éventuellement, par après, le traitement alternatif des lignes et la réduction de la concentration à 0,20-0,25% en dehors des époques au cours desquelles les attaques de *Ramularia* sont intenses.

La rentabilité des traitements, fonction de la productivité des plantations, du produit utilisé et des modalités d'application, ne pourra être établie qu'après expérimentation sur grandes surfaces.

Tabac.

— Affections maculicoles.

Agents : *Alternaria longipes, Cercospora nicotianae* et *Pseudomona tabaci.*

Les suspensions des produits, dont la liste est donnée suivant l'ordre dégressif d'efficacité, seront pulvérisées chaque semaine, durant une période se terminant un mois avant la récolte, à raison de 100 litres pour 900 mètres carré de pépinière ou de 500 à 800 litres à l'hectare de plantation :

— Bouillie bordelaise, produit contenant 1 kg de chaux éteinte et 1 kg de cristaux de sulfate de cuivre dans 100 litres d'eau.

— Dichlone, poudre mouillable, utilisée à la concentration de 0,25 à 0,50%.

— Zineb, poudre mouillable, utilisée à la concentration de 0,25 à 0,50%.

— Oxychlorure de cuivre, poudre mouillable, contenant 50% de cuivre, utilisée à la concentration de 0,5%.

— Oxydule de cuivre, poudre mouillable, contenant 50% de cuivre, utilisée à la concentration de 0,4 à 0,5%. Cette préparation est malheureusement susceptible de brûler certaines variétés de tabac.

— Oïdium.

Agent : *Erisyphe cichoracearum.*

On pulvérisera chaque semaine 500 à 800 litres à l'hectare d'une bouillie contenant 0,1% de Karathane Wd, sur des variétés sensibles de tabac, particulièrement dans les régions où les conditions écologiques sont favorables au développement de l'oïdium.

En cas d'utilisation du soufre on se contentera de poudrer le sol entre les tiges de tabac étant donné que ce produit appliqué sur les feuilles compromet la qualité du produit fini.

— Fourmis en pépinières.

Afin de répartir plus régulièrement les semences de tabac, on les mélange avec de la cendre de bois, ce qui n'empêche pas certaines petites fourmis d'emporter des graines germées, cela évidemment au détriment de la levée. Afin d'éviter cet inconvénient on ajoute à la cendre de bois tamisée une poudre contenant 2,50% d'aldrine et cela à raison de 1 à 2 g d'insecticide par mètre carré de pépinière.

— Acridiens.

Les acridiens sont particulièrement dommageables peu après la plantation. Les poudrages, à raison de 20 kg à l'hectare, de produits contenant soit 1 à 2% de lindane, soit 2,5% d'aldrine, sont efficaces. En tout état de cause, le H.C.H. technique doit être proscrit.

Afin de ne pas altérer le goût du produit récolté, les traitements seront arrêtés après le deuxième buttage.

— Termites.

Dans certains types de sol les termites rongent les tiges de tabac un peu en dessous de la surface du sol. Deux traitements sont à recommander :

— Enfouir dans le sol au moins un mois avant la plantation, de la cyanamide calcique, et la mélanger intimement à la couche superficielle à raison de 250 g par mètre carré. Ce procédé jouit en sus des avantages suivants :

  Fournir à la plante une importante quantité d'azote assimilable progressivement;

  Réduire fortement les dommages provoqués par le flétrissement bactérien.

— Mélanger à l'engrais un produit contenant 2,5% de dieldrine à raison de 1,5 kg de matière active à l'hectare lors de la plantation et de 1 kg au moment du buttage.

— Insectes divers :

Plusieurs insectes : *Phtorimea heliopa*, *Bemisia tabaci*, *Nezara viridula*, *Myzus persicae* et *Heliothis* sp. sont susceptibles d'endommager les pépinières et les champs de tabac.

Des traitements préventifs hebdomadaires peuvent être combinés avec les applications de fongicides. Il faut rappeler que la bouillie bordelaise et le parathion sont incompatibles.

On appliquera, en pulvérisations, jusqu'à environ un mois avant la récolte, alternativement, le parathion puis le D.D.T., respectivement à raison de 30 et de 250 g de matière active par hectolitre d'eau.

Cent litres sont nécessaires pour 900 mètres carrés de pépinière et compte tenu du développement des plants 500 à 600 litres par hectare de plantation.

— Puceron.

Après l'arrêt des traitements préventifs habituels, les pucerons et principalement *Myzus persicae* font parfois leur apparition à la fin de la croissance du tabac, lorsque la saison sèche est bien établie.

Le haut des tiges, les jeunes feuilles et les inflorescences, seuls organes parasités par les pucerons, seront poudrés à raison de 20 kg à l'hectare d'un produit contenant 2% de parathion.

— Nématodes.

Les nématodes et plus particulièrement *Meloidogyne* sp. provoquent des nodules sur les racines. Si le traitement des champs s'avère nécessaire, il faut de toute façon prévoir la stérilisation partielle des lits de pépinières, souvent à l'origine de l'extension des nématodes.

Le traitement par fumigation au D.D. s'effectue au moyen du monopal injecteur. Les trous d'injection sont disposés à 25 cm en tous sens, c'est ainsi que sur la largeur d'une plate-bande on en compte cinq. Soixante à 96 centimètres cubes de produit sont nécessaires pour traiter un mètre courant de pépinière. L'efficacité du D.D. dépend du soin avec lequel sont effectuées les opérations précédant ou suivant son application. On pourra semer ou planter une pépinière stérilisée quinze jours après l'injection de D.D.

— *Plantes vivrières.*

Vu l'incidence économique actuelle au Congo belge, il est très peu de plantes vivrières dont la valeur justifie l'utilisation de traitements phytopharmaceutiques. Font cependant exceptions : la pomme de terre et le bananier lorsqu'ils sont cultivés dans certaines régions.

— *Pommes de terre*

— Alternariose.

— Agent : *Alternaria solani.*

Les suspensions des fongicides, dont la liste est donnée suivant l'ordre dégressif d'efficacité, seront pulvérisées chaque semaine à raison de 500 à 800 litres à l'hectare suivant le développement des plants et leur écartement, durant une période débutant un peu avant la floraison et se terminant lors de la fanaison complète de la plante :

— Zineb, poudre mouillable utilisée à la concentration de 0,25 à 0,50%.

— Maneb, poudre mouillable utilisée à la concentration de 0,25 à 0,50%.

— Oxychlorure de cuivre utilisé à la concentration de 0,50 à 0,75%.

— Bouillie bordelaise contenant 1,5 kg de chaux éteinte et 1,5 kg de cristaux de sulfate de cuivre dans 100 litres d'eau.

— *Mildiou.*

Agent : *Phytophthora infestans.*

Seuls les plants traités dès l'apparition des premières macules foliaires par l'un ou l'autre des fongicides : captane, tuzet, oxydule de cuivre, oléocuivre et zinèbe ont donné une production significativement supérieure à celle du témoin.

— Insectes divers.

— Ennemis du feuillage.

Plusieurs insectes : *Epilachna hirta, E. serva, Epicauta vittata, Mizus persicae* et *Phtorimea operculella* sont susceptibles de parasiter le feuillage des pommes de terre.

Des traitements préventifs hebdomadaires peuvent être combinés avec les applications de fongicides. On pulvérisera alternativement 500 à 800 litres par hectare, suivant le développement des plantes et leur écartement, de parathion et de D.D.T.

à des concentrations respectives de 30 et de 250 g de matière active à l'hectare.

— Ennemis du système radiculaire.

Parmi ces insectes, il faut citer : *Agrotis* sp. et *Gonocephalum simplex*.

Le sol sera traité au moyen d'un produit contenant 2,5 à 5 % de dieldrine à raison de 2,5 kg de matière active à l'hectare, lors de l'application des engrais ou au moment des buttages.

— Conservation des tubercules destinés à la plantation.

Les tubercules de pommes de terre emmagasinés à la replantation, pouvant être endommagés par : *Pseudococcus citri, Myzus persicae, Fusarium* sp. et d'autres cryptogames ou par des bactéries, seront après ressuyage enrobés par l'un des deux mélanges suivants :

— Six parties d'une poudre contenant 98% de chloranil et une partie d'une poudre dosant 15 % de parathion;

— Six parties d'une poudre contenant 50% de thiram et une partie d'une poudre à 15% de parathion.

— *Bananier.*

Afin d'éviter que *Cosmopolites sordidus* puisse étendre ses ravages, divers produits : l'endrine, le H.C.H., le toxaphène et des arsénicaux fluorés, ont été incorporés à un mortier de terre semi-liquide, dont on a enrobé de jeunes rejets de bananiers avant la mise en place. Les bananiers traités à l'endrine ont moins souffert des attaques du charançon que le matériel qui avait été traité avec les autres insecticides. Les témoins ont subi des dommages importants.

— *Conservation des vivres.*

Deux insectes ennemis des produits emmagasinés ont été étudiés. Le premier : *Bruchus obtectus* s'attaquant au Kivu aux haricots et le deuxième : *Calandra oryzae* ennemi du maïs et du sorgho.

Etant donné que ces deux insectes se multiplient non seulement dans les endroits de stockage mais qu'ils vivent également dans les champs, il y a lieu de recourir à la fois à des méthodes préventives et curatives.

Avant de subir un traitement, les graines destinées à l'emmagasinage devront préalablement être séchées. Le séchage diminue sensiblement le pouvoir germinatif des semences, empêche le développement des moisissures et contrarie celui des insectes.

Le séchage s'effectue soit par exposition aux rayons du soleil, soit par des moyens mécaniques. Malheureusement, par suite du degré hygrométrique habituellement élevé de l'atmosphère, les graines séchées reprennent aisément une teneur en eau favorable au développement normal du cycle des insectes. C'est pourquoi,

dans la plupart des cas, les graines emmagasinées doivent subir d'autres traitements, soit physico-chimiques, soit chimiques.

Cependant les graines stockées dans des silos hermétiques peuvent être conservées directement après un bon séchage, la conservation étant basée sur le fait que les insectes meurent lorsque l'air contient un certain taux d'anhydride carbonique.

Parmi les produits agissant par leurs propriétés physico-chimiques, les poudres inertes, ,,inert-dust'', provoquent chez l'insecte une déshydratation qui lui est fatale. Au Kivu les poudres inertes ont été pratiquement inefficaces dans la lutte contre la calandre, étant donné que l'état hygrométrique de l'atmosphère y est très élevé.

La lutte chimique utilise les poudres insecticides d'enrobage et les fumigations. Ces dernières nécessitent des installations spéciales et un contrôle médical.

Les insecticides utilisés actuellement, sont à base de D.D.T., de H.C.H., ou de pyréthrines.

Les pyréthrines, aux doses utilisées pour la conservation des vivres, ne sont toxiques ni pour l'homme, ni pour les animaux à sang chaud. Il n'en est pas de même pour le D.D.T. et H.C.H.; c'est pourquoi la plupart des pays ont instauré des législations limitant ou interdisant leur utilisation pour la protection des produits emmagasinés à des fins alimentaires.

— *Boisements.*

Au cours de ces dernières années il a été constaté que les pépinières de *Chlorophora excelsa* sont fréquemment parasitées par le psyllide gallicole : *Phytolima lata.*

Le parathion utilisé en pulvérisation à 0,025% de matière active a eu une efficacité totale.

Une pulvérisation de D.D.T. à raison de 3 kg de matière active à l'hectare a enrayé rapidement une invasion de chenilles de *Diaphania* sp. dans les peuplements de *Alstonia boonei.*

— *Substances phytocides.*

Des essais de débroussaillement ont été effectués avec des esters de 2,4 D et de 2,4-5 T, des mélanges de ceux-ci, ainsi qu'avec le T.C.A. ou trichloracétate de soude, le C.M.U. ou Chlorophényl-diméthyl-urée et de l'I.P.C. ou isopropylphényl-carbamate.

Le 2,4 D utilisé à la concentration de 0,4% d'équivalent acide, permet un contrôle satisfaisant de la jacinthe d'eau ou *Eichlornia crassipes,* 1,5 kg à l'hectare de sel aminé de 2,4 D assure une destruction quasi totale après huit semaines des parties aériennes de la jacinthe d'eau, une dose de 3 kg provoque la mort de la plante entière.

Arrivé au terme de ce trop long exposé malheureusement encore incomplet, je me dois de signaler que cette causerie orientée vers l'utilisation des produits phytopharmaceutiques au Congo a volontairement omis de rapporter outre les travaux de biologie, les recherches relatives à la fusariose du Caféier Robusta, au Wilt du cotonnier, du palmier à huile et en principe tous les travaux phytopathologiques orientés vers la recherche de variétés résistantes à leurs ennemis.

La Division de Phytopathologie et d'Entomologie agricole a étudié, sans discrimination, divers insecticides, fongicides et appareils d'épandage provenant de firmes belges, françaises, hollandaises, allemandes, anglaises et américaines.

Tout permet d'espérer que, compte tenu du renforcement régulier de son personnel, ses activités pourront s'étendre progressivement à la lutte contre tous les ennemis de toutes les cultures pratiquées au Congo.

VERSPREIDING VAN DICHLOORPROPAAN-DICHLOORPROPEEN IN VERSCHILLENDE GRONDSOORTEN

door

J. Van den Brande, J. D'Herde en R. H. Kips

De onderzoekingen van de laatste jaren hebben aangetoond dat door plantenparasitaire aaltjes zeer belangrijke schade wordt veroorzaakt en hierdoor werd aan het probleem van de direkte bestrijding door scheikundige bodemontsmetting meer en meer aandacht besteed. Verschillende nieuwe produkten werden de laatste tijd als nematiciden op de markt gebracht en getest. Van geen enkel dezer produkten kon nochtans een cystendodende werking worden aangetoond welke deze van het sinds lang gekende dichloorpropaan-dichloorpropeen overtreft of zelfs evenaart. Eigen onderzoekingen (10) toonden aan dat verzadigde dampen van dit produkt bevochtigde *Heterodera rostochiensis*-cysten in 20 minuten tijd tot afsterven brengen. Doch met het bestaan van goede nematiciden is het probleem van de scheikundige grondontsmetting verre van opgelost; immers de meest effective produkten zullen slechts dan goede resultaten opleveren wanneer ze zich daarenboven op voldoende wijze in de bodem kunnen verspreiden.

Het probleem van de verspreiding van bodemfumigantia werd reeds door tal van onderzoekers bestudeerd. Hagan en Hanneson (4-5) kwamen tot de bevinding dat de beweging van CS_2 hoofdzakelijk bepaald wordt door het watergehalte van de grond. Volgens Hanneson is de beweging van CS_2 in luchtdroge grond 6 tot 10 maal groter dan in vochtige grond. Hanson en Nex (6) besloten uit hun onderzoek naar de diffusie van ethyleen dibromide in zandleem en in kleileem grond dat de grondporositeit de belangrijkste rol speelt; verhoogde vochtigheid of sterk aandrukken van de grond vermindert de porositeit en dientengevolge ook de diffusie. Zij constateerden een minimale adsorptie in de buurt van het verwelkingspunt en een stijgende adsorptie naarmate de grondvochtigheid er verder onder of boven lag. Voor gelijke porositeit was de diffusie trager in kleileem dan in zandleem hetgeen wordt toegeschreven aan de kleinere poriën in dit grondtype. Volgens Wade (11) die voornamelijk het adsorptievermogen

bestudeerde, zou de hoeveelheid geadsorbeerde ethyleen dibromide in gronden waarvan het watergehalte gelegen is binnen de grenzen die normaal in het veld voorkomen, lichtjes stijgen met het vochtgehalte en proportioneel zijn met het gehalte aan organische koolstof in de grond.

Volgens Thorne (9) zijn het eveneens de grondporositeit en het watergehalte die de diffusie bepalen; hij noemt gronden met wateraequivalenten onder de 20% voldoende poreus.

Volgens Mc Beth (7) moet het watergehalte bij een DD-behandeling lager liggen dan het wateraequivalent. Voor zand, zandleem en klei zou het optimale watergehalte gelegen zijn tussen 50 en 80% van hun wateraequivalent en in gronden met wateraequivalenten boven de 25% zouden hogere dosissen moeten gebruikt worden.

Allen & Raski (1) gingen de verspreiding na van DD in 6 verschillende grondsoorten bij constant watergehalte per grondsoort. Een zelfde dosis DD had in zandleemgrond een bijna 100 maal sterkere werking ten opzichte van het bietencystenaaltje dan in zware klei en in leemgrond rijk aan organische stof; de gebruikte watergehalten bij deze grondsoorten waren echter zeer uiteenlopend nl. 5,1% voor zandleem 23,2% voor klei en 112,5% voor humusrijke leemgrond.

In de door ons uitgevoerde proeven werd de invloed van bodemtype en gehalte aan organisch materiaal bij verschillende watergehalten op de nematicide werking van DD ten opzichte van het aardappelcystenaaltje onderzocht.

I. Laboratoriumonderzoek

In een eerste reeks proeven werd de diffusiesnelheid van DD in zandleem, leem, klei, zware klei en zandgrond gemengd met heidegrond in 4 verschillende verhoudingen, bij 3 verschillende watergehalten nagegaan.

Deze proeven werden uitgevoerd in gesloten glazen potten van 25 cm hoogte en 15 cm diameter welke tot 20 cm hoogte met grond waren gevuld. De grond werd in al de potten op eenzelfde wijze vastgeschud en langsheen de wand zeer stevig aangedrukt, ten einde het ontwijken der gassen langsheen de glaswand te voorkomen. Aan elke pot werd langs een kleine opening in de bodem een halve cc DD toegediend. Het ontwijken der DD dampen uit de grond werd nagegaan door het bepalen van de mortaliteit van cysten welke op vochtige watte in een buisje bovenaan in de pot en juist onder de grondoppervlakte in de grond zelf werden aangebracht.

Het aanbrengen van cysten in de grond zelf had tot doel na te gaan of hun bevochtigingsgraad in de verschillende gronden met lage watergehalten voldoende hoog was om op even snelle

wijze als de sterk bevochtigde cysten in de buisjes, door de DD dampen gedood te worden.

Na verloop van de gekozen inwerkingsduren werd telkens een hoeveelheid cysten uit de buisjes en uit de grond weggenomen en aan lokproeven onderworpen.

Deze lokproeven gaven na 2 maand volgende larve uitkomsten. (Tabel I & II).

TABEL I

Aantal gelokte larven per 20 cysten na 60 dagen

	Zandgrond			Zandgrond + 5% Heidegrond			Zandgrond + 10% Heidegrond			Zandgrond + 20% Heidegrond		
Watergehalte in %	5	9	15	6	10	16	5	12	16	6	12	17
Inwerkingsduur in dagen												
A 2	0	0	3400	0	0	5171	0	0	3742	0	0	3344
4	0	0	3724	0	0	0	0	0	1425	0	0	0
6	0	0	3839	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B 2	0	0	3086	0	0	8096	0	0	4116	23	224	3279
4	0	0	4178	0	0	446	0	0	3846	0	0	128
6	0	0	4581	0	0	0	0	0	0	0	0	0

A : cysten uit de buisjes
B : cysten uit de grond

TABEL II

Aantal gelokte larven per 20 cysten na 60 dagen

	Zandleem			Leem			Klei			Zware Klei		
Watergehalte in %	7	12	17	7	11	17	8	13	17	9	15	19
Inwerkingsduur in dagen												
A 1	0	0	4057	0	0	3051	0	0	3303	0	0	2374
2	0	0	3136	0	0	2302	0	0	1622	0	0	2514
4	0	0	3947	0	0	0	0	0	0	0	0	1470
8	0	0	4460	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B 1	0	0	2915	0	0	6739	0	0	6017	0	0	4151
2	0	0	1594	0	0	2879	0	0	2811	0	0	2065
4	0	0	1566	0	0	0	0	0	0	0	0	380
8	0	0	1347	0	0	0	0	0	0	0	0	0

A : Cysten uit de buisjes
B : Cysten uit de grond

Deze uitslagen tonen aan dat de verspreiding en de bereikte DD concentratie voor alle grondsoorten bij laag en gemiddeld watergehalte reeds na één dag voldoende was om de cysteninhoud te doden. Bij hoge watergehalten blijkt de diffusie merkelijk trager te verlopen. Vroegere onderzoekingen (10) hebben trouwens voor zandgrond aangetoond dat bij deze hoge watergehalten de gassen helemaal niet diffunderen. Dit blijkt ook hier bij zand en zandleemgrond het geval te zijn wat waarschijnlijk verband houdt met de relatief lage watercapaciteit van deze gronden, zodat zij bij de gebruikte hoge watergehalten praktisch verzadigd zijn.

Er kon dus in de gegeven proefomstandigheden geen invloed van grondtype of gehalte aan organische stof (heidegrond) op de verspreiding der DD dampen worden aangetoond. Deze resultaten wijzen alleen op een invloed van het vochtgehalte van de grond en ze tonen aan dat de diffusie van DD rechtstreeks afhankelijk is van de verzadigingsgraad van de grond aan water.

In een volgende proef werd de invloed van verschillende grondtypes op de nematicide werking van DD bestudeerd in open eternieten bakken van 25 cm vierkant en 30 cm diep, overeenkomstig de afmetingen van het volume grond dat op het veld door een injectiepunt wordt bestreken. De verschillende gronden werden eerst gedeeltelijk aan de lucht gedroogd, vervolgens werden ze verkruimeld en door besproeiing met water derwijze bevochtigd dat een bal grond met de hand lichtjes geperst, nauwelijks zijn vorm behield. De grond werd in alle bakken op dezelfde wijze aangedrukt. In het midden van de bak werd op 20 cm diepte 2,5 cc en 5 cc DD geïnjecteerd overeenkomende met een dosis van respektievelijk 4 en 8 liter per are. Na verloop van 10 dagen werd de verspreiding der gassen nagegaan door het onderzoek naar de leefbaarheid der cysten welke op 7 verschillende plaatsen, variërend van de meest gunstige, juist boven het injectiepunt, tot de minst gunstige, vlak aan de oppervlakte, in met grond gevulde kooitjes werden aangebracht. Oppervlakkig uitdrogen van de grond werd voorkomen door de bakken gedurende de proef in een met waterdamp verzadigde atmosfeer te plaatsen. Tabel III geeft de uitslagen dezer proeven weer.

Deze cijfers wijzen op een gelijkaardige verspreiding van het nematicide in alle grondsoorten en dit zowel bij de lage als bij de hoge dosis DD. Het feit dat de inhoud van de cysten welke in de oppervlakkige laag voorkwamen, zelfs bij 4 l DD overal grotendeels was afgestorven bewijst dat een goede verspreiding heeft plaats gehad en dat het nematicide in alle bakken tot aan de oppervlakte in nematicide concentratie is doorgedrongen.

Deze proef toont duidelijk aan dat het bodemtype geen merkbare invloed heeft op de verspreiding van DD dampen.

TABEL III

Aantal gelokte larven per 20 cysten na 60 dagen

Grondsoort	Watergehalte in %	Concentratie DD	Punten						
			1	2	3	4	5	6	7
Zandgrond ...	11	4	0	0	0	0	0	7	11
		8	0	0	0	0	0	0	9
Zandleem	13	4	0	0	0	0	0	8	134
		8	0	0	0	0	0	0	0
Leem	15	4	0	0	0	0	0	0	260
		8	0	0	0	0	0	0	203
Klei	14	4	0	0	0	0	0	14	11
		8	0	0	0	0	0	0	0
Zware klei ...	14	4	0	0	0	0	0	53	64
		8	0	0	0	0	0	0	0

II. Veldproeven

Kleine veldproeven werden op verschillende plaatsen van het land doorgevoerd op percelen waarvan de grond de physische kenmerken vertoonde zoals opgegeven in tabel IV.

TABEL IV

	Zandleem	Leem	Klei	Zware klei	Bladgrond
Wateraequivalent	15,3	17,5	19	22,4	69
Verwelkingspunt	7,4	7,3	13,1	16,–	60,7
Veldcapaciteit.........	10,8	19,–	20,7	23,9	67,6
Porositeit	45,54	47,77	57,19	56,85	68

Het gehalte aan organische stof in de bladgrond bedroeg 24,5%. De verspreiding der DD dampen werd in deze proeven op dezelfde wijze nagegaan als in de hoger beschreven bakproeven nl. door op 7 verschillende plaatsen rond het injektiepunt, kooitjes met cysten aan te brengen. In elke grondsoort werden na voorafgaandelijk spitten tot op 30 cm diepte, per concentratie, 16 injecties uitgevoerd met 25 cm afstand tussen de injectiepunten die in vierkantsverband werden aangebracht. Rond elk van de vier centraal gelegen injektiepunten werd een reeks kooitjes met cysten

opgesteld. Na de behandeling werd de grond aan de oppervlakte geëffend en lichtjes aangedrukt. Alle perceeltjes werden overspannen met plastiek om het beregenen te beletten. De behandelingen werden uitgevoerd rond half maart bij een bodemtemperatuur van 8° tot 10° C op 20 cm diepte. Na verloop van 14 dagen werden de cysten uit de grond genomen om op leefbaarheid onderzocht te worden.

De uitslagen dezer proeven zijn samengevat in tabel V.

TABEL V

Aantal gelokte larven per 20 cysten na 60 dagen

Grondtype	Watergehalte in %	Concentratie DD	Punten						
			1	2	3	4	5	6	7
Zware klei	17,5	4	0	0	0	0	0	667	1275
		8	0	0	0	0	0	428	438
Klei	21,5	4	0	0	721	1595	2478	2258	2363
		8	0	0	61	182	556	2441	1922
Leem	18	4	0	0	882	1163	1155	1980	1547
		8	0	0	0	0	0	31	386
Zandleem	14,3	4	0	0	0	0	0	0	425
		8	0	0	0	0	0	0	0
Bladgrond	43	4	0	0	0	0	12	1871	1875
		8	0	0	0	0	0	1254	809

Uit deze cijfers blijkt dat het nematicide zich niet in alle gronden op gelijkaardige wijze heeft verspreid.

De diffusie was het grootst in zandleem grond en het geringst in klei en leemgrond.

Opvallend is dat de verspreiding in zware klei en in bladgrond beter was dan in klei en leemgrond in tegenstelling met hetgeen men zou verwachten indien adsorptie van de gassen aan het klei-humus complex de verspreiding zou beïnvloeden. Dit schijnt er eens te meer op te wijzen dat de verspreiding der DD dampen ook in kleigrond en in grond rijk aan organisch materiaal hoofdzakelijk wordt bepaald door de physische toestand waarin de bodem zich op het ogenblik der behandeling bevindt. Het feit dat de geringste verspreiding werd vastgesteld in de 2 gronden waarvan het watergehalte hoger was dan hun wateraequivalent toont aan dat het watergehalte van de grond ook hier van dominerend belang is geweest.

Besluit

De onvoldoende diffusie van DD in zwaardere gronden en in gronden die rijk zijn aan organisch materiaal dient niet toegeschreven aan de adsorberende eigenschappen dezer gronden maar is een gevolg van het feit dat de faktoren welke de physische toestand van de bodem op het ogenblik der behandeling bepalen, niet in de gewenste voorwaarden aanwezig zijn. Van deze faktoren is het watergehalte van de grond de belangrijkste. Alhoewel voor de geteste grondsoorten het watergehalte dat voor het toepassen van DD ideaal is, niet nauwkeurig werd bepaald, blijkt nochtans uit de bekomen resultaten dat het waterprocent van de grond op het ogenblik der behandeling lager moet zijn dan het wateraequivalent.

SAMENVATTING

In laboratorium- en veldproeven werd de invloed van grondsoort en gehalte aan organisch materiaal bij verschillende watergehalten op de verspreiding van dichloorpropaan-dichloorpropeen onderzocht, met het aardappelcystenaaltje als testorganisme.

Vijf verschillende grondsoorten werden bestudeerd nl. duinzandgrond, zandleem, leem, lichte klei en zware klei. Een eerste reeks proeven werd uitgevoerd in gesloten glazen potten tot op 20 cm hoogte met de te onderzoeken grond gevuld. Aan elke pot werd DD toegediend langs een kleine opening onderaan de pot. De verspreidingssnelheid doorheen de grond werd nagegaan door het bepalen van de mortaliteit van cysten, welke op vochtige watte in een buisje bovenaan in de pot en juist onder de oppervlakte in de grond zelf werden aangebracht.

Bij bakproeven werd het nematicide in het midden op 20 cm diepte geïnjekteerd. Na 10 dagen inwerking werd de verspreiding der gassen nagegaan door het onderzoek naar de leefbaarheid van de cysten, welke op bepaalde afstanden van het injektiepunt in met grond gevulde kooitjes werden aangebracht.

Een derde reeks proeven werd in het veld zelf uitgevoerd.

De toegediende hoeveelheid DD was 4 en 8 l per are en de inwerkingsduur 14 dagen. De verspreiding der gassen werd hier eveneens nagegaan bij middel van in kooitjes opgesloten cysten.

De uitslagen dezer proeven wijzen op een dominerende invloed van het watergehalte van de grond op de verspreiding van DD-dampen in de onderzochte grondsoorten.

RESUME

Répartition du dichloropropane-dichloropropene dans différents sols

L'influence de la composition du sol, de la teneur en matière organique et en eau sur la distribution du DD dans le sol a été étudiée dans des essais de laboratoire et sur champ avec le nématode doré de la pomme de terre.

Cinq sols de compositions différentes ont été employés : sable des dunes, sable-limoneux, limon, argile légère et lourde.

Pour une première série d'expériences des bocaux en verre fermés furent remplis du sol à examiner sur une hauteur de 20 cm et le DD introduit par une ouverture circulaire dans le fond du bocal. La rapidité de la diffusion des vapeurs a été déterminée en contrôlant la mortalité de kystes dans la couche supérieure du sol et à la surface de petits tubes remplis d'ouate mouillée.

Dans une seconde série d'expériences, le sol était introduit dans des bacs en ,,eternit'' (25 × 25 × 30) et le DD injecté au centre à une profondeur de 20 cm. Après 10 jours, la diffusion des vapeurs était estimée par le contrôle de la viabilité des kystes introduits à différentes distances du point d'injection.

Pour les expériences en plein champ il fut procédé de la même façon que dans les bacs. Les doses de DD correspondent à 4 l et 8 l/are, la durée de l'expérience était de 14 jours. Les résultats obtenus indiquent une influence prédominante de la teneur en eau du sol sur la distribution des vapeurs de DD dans les sols de compositions différentes.

SUMMARY

Distribution of dichloropropane-dichloropropene in different kinds of soil

The influence of the kind, the organic matter and water content of soil on the distribution of DD has been studied in laboratory and field experiments on the potato root eelworm.

Five different kinds of soil have been used : dune sand, sandy loam, loam, sandy clay and heavy clay.

In a first series of experiments closed glass cylinders were filled with the soil to be examined up to a height of 20 cm, DD being introduced through a small circular opening in the bottom. The diffusion speed of the vapours was estimated by checking the

mortality of cysts in the surface layer and on wet cotton wool placed in small glass tubes.

In a second series of experiments square boxes in asbestos-cement „eternit" (25 × 25 × 30) were filled with soil, DD being injected in the centre at a depth of 20 cm. After 10 days exposure the distribution of DD vapours was mapped by determining the viability of cysts introduced at various distances from the injection point.

The field experiments were carried out in a similar way. The DD rate was 4 l en 8 l/are, time of exposure 14 days.

The results indicate the dominating influence of the water content on the distribution of DD vapours in different kinds of soil.

ZUSAMMENFASSUNG

Verteilung von Dichlorpropan-Dichlorpropen in verschiedenen Böden

Der Einfluss des Bodenartes, des Wasser- und organischen Stoffgehaltes des Bodens auf die Verteilung von DD, wurde untersucht im Laboratorium und in Feldversuchen auf der Kartoffelnematode.

Fünf verschiedene Bodenarten sind gebraucht worden : Dünensand, sandiger Lehm, Lehm, sandiger und schwerer Tonboden.

In eine erste Versuchsreihe wurden Glaszylindern mit Erde gefüllt bis 20 cm höhe und wurde DD unteran eingebracht. Die Diffusiongeschwindigkeit der DD-Dämpfe ist bestimmt gewesen durch die Kontrolle der Mortalität von Zysten an der Bodenoberfläche oder auf feuchten Watten in gläsern Röhrchen.

In eine zweite Versuchsreihe wurden Kasten in Asbest-Zement „Eternit" (25 × 25 × 30 cm) mit Erde gefüllt und DD auf 20 cm Tiefe injektiert. Nach 10 Tagen Einwirkung wurde die Verteilung der Dämpfe durch die Kontrolle der Lebensfähigkeit von Zysten welche auf regelmässige Entfernungen vom Injektionspunkt angebracht wurden, bestimmt.

Die Freilandversuche wurden auf eine analoge Weise durchgeführt (DD 4 l und 8 l/Are, Einwirkungsdauer : 14 Tage).

Die Resultate deuten hin auf einen vorherrschenden Einfluss des Bodenwassergehalts auf der Verteilung von DD Dämpfen in verschiedenen Böden.

LITERATUUR

1. ALLEN (M. W.) & RASKI (D. J.). — The effect of soil type on the dispersion of soil fumigants. *Phytopathology*, 1950, **40**, 11, pp. 1043-1053.
2. DIETER (L. E.). — Factors affecting results with soil fumigants. *The Plant Disease Reporter*, 1954, suppl. 227, Oct. 15, pp. 98-101.
3. GOFFART (H.). — Erfahrungen mit DD und P_4 bei der Bekämpfung von Kartoffelnematoden (*Heterodera rostochiensis* Woll.). *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutsdienstes*, 1954, **6**, 11, pp. 161-166.
4. HAGAN (R. M.). — Movement of carbon disulphide vapor in soils. *Hilgardia*, 1941, **14**, 2, pp. 83-118.
5. HANNESON (H. A.). — Movement of carbon bisulphide vapor in soil affected by soil type, moisture content and compaction. *Hilgardia*, 1945, **16**, pp. 503-510.
6. HANSONS (W. J.) & NEX (R. W.). — Diffusion of ethylene dibromide in soils. *Soil Science*, 1953, **76**, 3, pp. 209-214.
7. MC BETH (C. W.). — Some practical aspects of soil fumigation. — *The Plant Disease Reporter*, 1954, suppl. 227, Oct. 15, pp. 95-97.
8. MC CLELLAN (W. D.), CHRISTIE (J. R.) & HORN (N. L.). — Efficacy of soil fumigants as affected by soil temperature and moisture. *Phytopathology*, 1949, **39**, 3, pp. 272-283.
9. THORNE (G.). — Diffusion patterns of soil fumigants. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 1951, **18**, 1, pp. 18-24.
10. VAN DEN BRANDE (J.), KIPS (R. H.) & D'HERDE (J.). — Invloed van de vochtigheid bij de scheikundige bestrijding van het aardappelcystenaaltje, *Heterodera rostochiensis* Woll. *Mededelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent*, 1954, **19**, pp. 353-372.
11. WADE (P.). — The sorption of Ethylene dibromide by soils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1954, 4, pp. 184-192.

M. Oostenbrink, Wageningen

V : Geven de door u vertoonde resultaten wellicht aanleiding om te overwegen of in de praktijk de afstand tussen de injektiepunten of -strepen (± 25 cm) wellicht vergroot zou kunnen worden (bv. tot ± 40 cm), hetgeen van groot praktisch belang zou kunnen zijn.

A : Neen, want reeds bij de gebruikte afstand van 25 cm is het moeilijk volledige doding te bekomen na 10 dagen in punten 6 en 7 die aan de oppervlakte gelegen zijn.

V : DD is een mengsel van hoofdzakelijk dichloorpropeen en dichloorpropaan, waarvan dichloorpropeen als het agens geldt. Is het echter inderdaad zeker, dat dichloorpropaan niet meedoet? Als dit wel het geval is, zou de verspreiding een zeer gecompliceerd proces zijn.

A : Dit probleem werd niet onderzocht.

J. D. Bijloo, Nederland

V : 1) Een der componenten van DD, het dichloorpropeen wordt door Dow en Telon in U.S.A. beproefd.

2) De verschillen welke Fenwick bij verschillende monsters vond, zou te verklaren kunnen zijn uit verschillende gehalten aan water in het produkt, waardoor hydrolyse zou optreden.

VERGELIJKING VAN ENKELE GRONDONTSMETTINGSMIDDELEN MET NEMATICIDE WERKING

door

A. F. H. Besemer en M. Oostenbrink

Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen

Bij de toetsing van nematiciden op hun gebruikswaarde bij de bestrijding van verschillende wortelaaltjes (*Pratylenchus, Hoplolaimus, Paratylenchus* en andere soorten) bleek DD, (dichloorpropeen + dichloorpropaan) in doseringen van 50-60 $cm^3/m2$ tot nu toe onder nederlandse omstandigheden het meest efficient(1). Van de resultaten bij verschillende boomkwekerij- en bloemgewassen, bij peen en andere groentegewassen, zijn op vroegere symposia reeds mededelingen gedaan (5, 6, 9).

Een ander bekend grondontsmettingsmiddel, EDB, bleek in genoemde culturen weinig betrouwbaar te werken, wanneer het toegepast werd in een dosering, die ter bestrijding van wortelknobbelaaltje (*Meloidogyne spp*) onder glas gebruikelijk is, nl. 45-60 $cm^3/m2$ van producten met 10 vol.% EDB. Dit komt overeen met ca. 9,5 — 12,5 gram EDB/m^2. Met deze dosis werd in enkele gevallen tegen de eerst genoemde aaltjes ook in buitenculturen een goed resultaat verkregen, maar veelal was dit niet het geval. Deze wisselende resultaten maakten het middel weinig aantrekkelijk voor toepassing in buitenculturen. Een nader onderzoek naar de mogelijkheid om hier met een verhoogde dosis van EDB een efficiënte en rendabele bestrijding te verkrijgen, was echter nog wenselijk.

Na een periode van betrekkelijke stilstand in de ontwikkeling van nieuwe nematiciden, althans in het voor de praktijk beschikbaar komen er van, zijn in de laatste jaren verscheidene middelen vooral op basis van thiocarbamaten en daaraan verwante verbindingen voor onderzoek aangeboden.

In de hierna te bespreken proeven werd nagegaan welke mogelijkheden EDB in hoge dosering en ook de nieuwe middelen ten aanzien van de bestrijding van aaltjes in diverse gewassen bieden in vergelijking met DD. Voor de vaststelling van de dosering van de nieuwe middelen werd afgegaan op oriënterende gegevens, die ons door mededeling van anderen en door eigen onderzoek ter beschikking stonden. Hierbij werd overwogen, dat een nieuw

middel eerst dan ingang zal kunnen vinden, wanneer de werking tegen aaltjes gelijk is aan die van DD of slechts weinig minder en het bovendien voordelen biedt in de vorm van een lagere prijs, een geringere fytociditeit (waardoor het mogelijk is na een kortere wachttijd dan bij DD vaak nodig is, te planten of te zaaien), een betere hanteerbaarheid, of nog andere gunstige eigenschappen.

Naast de aaltjesdoding is vooral de fytociditeit van betekenis voor de beoordeling van de praktijkwaarde van een middel. Reeds vroeger deelden wij mede, dat vooral op zware en humeuze gronden in Nederland de fytotoxische invloed van DD lang merkbaar blijft. In vele gevallen werd deze na 6 weken, in enkele gevallen zelfs na een half jaar, nog geconstateerd, hetgeen uiteraard een bezwaar is voor de toepassing van DD.

Aan de kosten van behandeling (middel + toepassing) behoefde bij ons onderzoek geen speciale aandacht te worden besteed. Het feit, dat de middelen voor onderzoek werden aangeboden, wijst er reeds op, dat de inzenders ze tot concurrentie in staat achten; overigens is dit van te voren meestal moeilijk te beoordelen.

Methoden van onderzoek

Na een voorafgaand oriënterend onderzoek in laboratorium- en potproeven, waarin de middelen geconfronteerd worden met een gelijkmatig verdeelde aaltjespopulatie van bekende hoogte, worden veelbelovende middelen nader getoetst in veldproeven. Bij dit oriënterend onderzoek onder gecontroleerde omstandigheden (zie 8) worden minimum doses gevonden, waarbij de middelen nog goed werkzaam zijn. Voor toepassing in de praktijk moeten deze doses als regel worden verhoogd.

Het blijkt in aansluiting hierop mogelijk met een relatief eenvoudige proefopzet een betrouwbare vergelijking van de werking van de middelen onder praktijkcondities te verkrijgen.

Een proefveld wordt als zodanig gekozen, wanneer blijkt, dat in enkele vooraf genomen grondmonsters, elk samengesteld uit 50 verspreid over het hele veld uit de bouwvoor genomen deelmonstertjes, een voldoend dichte populatie van plantenaaltjes aanwezig is. Soms ook kan worden afgegaan op de wortelaantasting van het voorafgaande gewas, waartoe een aantal verspreid groeiende planten moeten worden beoordeeld. De dan nog aanwezige verschillen in de aaltjespopulatie op verschillende plaatsen in een proefveld, zijn als regel voldoende op te vangen als de proef met vier of meer herhalingen wordt opgezet. Bij velden met een zeer onregelmatige aaltjesverdeling zijn meer herhalingen gewenst; dit is o.a. vaak het geval wanneer het onderzoek wordt gericht tegen wortelknobbelaaltje in tomatenkassen; voor proefnemingen in het vrije

veld is het meestal niet moeilijk om vrij gelijkmatig besmette velden te vinden.

Eventueel kan men herhalingen leggen in blokken met een verschillend besmettingsniveau, of, en dat vooral weer bij wortelknobbelaaltje, kan men de aantasting van het voorgaande gewas volledig karteren en daarna de veldjes met ongeveer gelijk aantastingsniveau in één herhaling verenigen. De veldjes kunnen relatief klein worden genomen; afhankelijk van het toetsgewas kan met 6 tot 15 m^2 worden volstaan.

De veldjes vertonen een zeer gering ,,randeffect", dank zij de geringe horizontale verplaatsing van de aaltjes. Zowel in de stand van het gewas als in de grootte der aaltjespopulatie is de grens tussen twee veldjes vrijwel steeds opvallend scherp. Het is zelfs mogelijk om behandelde veldjes van 1 à 2 m^2 gedurende verscheidene teeltjaren intact te houden, tenzij door frezen of een andere ruwe, mechanische bewerking van de grond de ligging wordt verstoord.

Om de invloed van de ontsmetting op de aaltjespopulatie te beoordelen wordt kort vóór of kort na het zaaien van een toetsgewas op ieder veldje ,,at random" een groot aantal deelmonsters genomen van grond en/of van planten. In de mengmonsters hiervan worden door grondonderzoek en/of door wortelonderzoek de aantallen aanwezige aaltjes bepaald op de in het laboratorium van de tweede auteur gebruikelijke methoden. Bij proeven tegen wortelknobbelaaltje in tomatenkassen kan men bij het na de behandeling geteelde toetsgewas op dezelfde wijze te werk gaan als bij de kartering van de aantasting in het voorgaande gewas; iedere plantvoet wordt opgerooid en met het blote oog beoordeeld en de ,,knolaantasting" met een cijfer 1 — 10 gewaardeerd (0 = plant geheel gezond, 10 = alle wortels zwaar bezet met ,,knobbels"). Daar hier elke plant afzonderlijk snel te beoordelen is, kan hier zelfs het hele gewas worden beoordeeld en desgewenst kan de aantasting op de aantasting van een vorig gewas betrokken worden. Bij onderzoek op andere wortelaaltjes is deze werkwijze als regel niet rendabel en bij een juiste proefveldkeuze ook niet nodig.

Als toetsgewas wordt bij voorkeur een zaaigewas genomen of men gebruikt plantgoed, dat niet of nauwelijks met aaltjes is besmet. Voor de beplanting van een proefveld zal men bij bepaalde gewassen liever niet uitgaan van gescheurde planten, omdat men daarmee een besmetting op behandelde veldjes kan introduceren.

Hoewel zij niet speciaal hierop gericht zijn, leveren dergelijke proefvelden door correlatie van de aaltjesaantallen met de stand en de opbrengst van het gewas en de oogst belangrijke gegevens ten aanzien van een eventueel aanwezige fytocide werking van de middelen.

Na het oogsten van het toetsgewas en voor het planten van een volgend gewas wordt opnieuw de aaltjespopulatie bepaald. Deze gegevens maken vaak een prognose mogelijk van de te verwachten schade door aaltjes bij volgende gewassen. De ,,nawerking'' van de middelen en daarmede het rendement van de grondontsmetting kan aan de hand van deze tellingen beoordeeld worden. Bij sommige middelen en bij bepaalde aaltjesaantastingen is de nawerking gering en loopt een tweede gewas reeds weer gevaar.

Andere middelen, zoals DD, doden de populaties van bepaalde *Pratylenchus*- en *Hoplolaimus*soorten zo grondig, dat het mogelijk is na een geslaagde ontsmetting gedurende 3 à 4 jaren goede gewassen te telen. Dit is, behalve van de aaltjesdoding, sterk afhankelijk van de aaltjessoort en van de vermeerderingssnelheid bij de teelt van bepaalde gewassen (zie 2).

Daar er bij de ontsmetting tegen wortelknobbelaaltje gewoonlijk een lange tijd ligt tussen de grondontsmetting en het planten van het volgende tomatengewas, is van een fytocide werking van de middelen op het tomatengewas vaak weinig te bespeuren. Daar echter vaak één of meer teelten aan de tomaten voorafgaan (sla, andijvie, bloemkool), is het van belang na te gaan, welke wachttijd met betrekking tot deze gewassen in acht moeten worden genomen.

Vergelijking van de werking van enige doseringen van EDB met die van DD

In een proef tegen wortelknobbelaaltje in tomaat werd de werking van o.a. 3 doseringen EDB, 10 vol. % en twee doseringen DD vergeleken (tabel I). Er werd vooral aandacht geschonken aan de ,,nawerking'' van de middelen. Zowel in het eerste als in het tweede seizoen na de behandeling werden tomaten geteeld. EDB, toegepast in de voor de praktijk gebruikelijke dosering van 46 cm^3/m^2 (= 9,5 gr actief/m^2), gaf een resultaat, dat ongeveer gelijk staat met dat van DD 40 cm^3/m^2. De ,,nawerking'' was echter iets geringer dan bij genoemde dosis DD; aan het eind van het tweede groeijaar bleek het aantastingsniveau gelijk te zijn aan dat van vóór de behandeling. In het tweede groeijaar werd dan ook duidelijke schade geconstateerd. Bij 72,5 cm^3 EDB 10 vol. % (ruim 15 g actief/m^2) was in het tweede seizoen nog een duidelijke invloed van de behandeling merkbaar. Zowel met DD 60 cm^3/m^2 als met 72,5 cm^3 EDB/m^2 10 vol % werd ook het tweede jaar een goed tomatengewas verkregen. Met 93 cm^3 EDB/m^2 (ca. 20 g actief) was de aaltjesdoding sterker dan bij DD 60 cm^3, terwijl de ,,nawerking'' ook beter was. Aan het eind van het tweede jaar was het aantastingsniveau nog zeer laag. Verwacht kan worden, dat ook een derde jaar tomaten geteeld zouden kunnen worden zonder merkbare schade.

TABEL 1

Grondontsmettingsproef Vl. 1953/1955, op rivierkleigrond tegen wortelknobbelaaltjes, *Meloidogyne sp.* Behandeling van de grond op 9 november 1953 (chloorpicrine op 15 december 1953)

Objecten (6 veldjes à 6,9 m² per object)	Gemiddelde aantasting per veldje (0 = alle planten gezond, 10 = alle planten sterk aangetast): nov. '53 (voor de behandeling)	nov. '55 (na eerste gewas tomaten)	nov. '55 (na tweede gewas tomaten	Verschil in aantasting ten opzichte van 1953: in 1954	in 1955
Onbehandeld	5,2	5,7	8,1	+0,5	+2,9
Onbehandeld	5,5	4,3	7,6	—1,2	+2,1
DD, 40 cm³/m²	5,1	0,8	2,9	—4,3	—2,2
DD, 59 cm³/m²	5,6	0,6	2,3	—5,0	—3,3
EDB 10 vol %, 46 cm³/m²	5,3	1,6	4,4	—3,7	—0,9
EDB 10 vol %, 93 cm³/m²	6,8	0,4	1,4	—6,4	—5,4
EDB 10 vol %, 72,5 cm³/m²	4,8	0,1	1,5	—4,7	—3,3
Chloorpicrine, 50 cm³/m²	6,8	0,3	2,1	—6,5	—4,7
Betrouwbaar verschil			P=0,01	1,71	2,40
S.D.			P=0,05	1,23	1,69

Ook bij de bestrijding van een aantasting van in hoofdzaak *Hoplolaimus uniformis* bij sierteeltgewassen kon worden aangetoond, dat een hoge dosering van EDB goede mogelijkheden biedt (zie tabel 2).

TABEL 2

Grondontsmettingsproef R. 1955-1956 op zavelgrond tegen *Hoplolaimus uniformis*. Behandeling van de grond op 2 september 1955. Gewas Centaurea, gezaaid op 31 maart 1956. H = Hoplolaimus, O = overige Tylenchida, S = saprofage aaltjes

Objecten (3 veldjes per object)	Standcijfer v/h gewas (som van 3 veldjes): 8 juni '56	19 juni '56	Aaltjes per 3 × 100 cm³ grond: Begin mei '56: H	O	S	voorjaar '57: H	O	S
Onbehandeld	8,5	7	920	690	2425	2110	580	4005
DD, 60 cm³/m²	18,5	21	10	80	2040	5	265	2825
EDB 10 vol %, 130 cm³/m²	17,5	17	0	115	2155	5	515 (1)	3680
EDB 10 vol %, 100 cm³/m²	18,5	17,5	15	145	2425	30	210	3440
Nemagon techn. 6 cm³ (1 : 9 verdund)	16,0	14,5	55	135	2465	155	180	2770

(1) Een van de drie veldjes afwijkend.

Geconcludeerd kan worden, dat na een ontsmetting met 100 à 130 cm^3 EDB 10 vol % (= ca 22-26 g actief/m^2) de aaltjespopulatie na één bloemgewas nog even laag is als bij een behandeling met 60 cm^3 DD m^2, zodat van beide behandelingen een nawerking van enige jaren verwacht kan worden (zie 2).

Uit de hiervoor vermelde en uit andere proeven werd de aanwijzing verkregen, dat de fytotoxische invloed van een dergelijke hoge dosis EDB op bepaalde gronden niet eerder verdwenen is dan bij een behandeling met DD, 60 cm^3/m^2. In kassen, waar als voorvrucht sla wordt geteeld, zal tussen de ontsmetting en het planten een vrij lange wachttijd noodzakelijke zijn. Tabel 5 geeft duidelijke aanwijzingen, dat bij een late najaarsbehandeling op een rivierkleigrond een wachttijd van 6 weken onvoldoende was om schade bij sla te vermijden, ondanks het feit, dat de grond herhaaldelijk omgewerkt werd en voor het uitplanten van de sla de temperatuur in de kas werd verhoogd om het ontwijken van de middelen te bevorderen.

Onderzoek van de nematicide werking van Natriummethyl-dithiocarbamaat („Vapam"), 3,5 dimethyltetrahydro-1,3,5 2H-thiodiazine-2-thion (N 521) en enige andere middelen

Een proefveld op zandgrond (tabel 3 en 4) geeft een duidelijk beeld van het effect en de gebruiksmogelijkheden van verschillende, ook nieuwere nematiciden. In verband met de aaltjespopulatie op dat proefveld werd aardappel als toetsgewas gekozen.

Waarnemingen werden verricht met betrekking tot de ontwikkeling en de opbrengst van dat gewas en de aantallen aaltjes in de grond, vlak vóór het poten van de aardappelen in het voorjaar van 1956 en na dit gewas, in het voorjaar van 1957.

Uit de aaltjestellingen en uit de opbrengstcijfers blijkt, dat zowel DD als een hoge dosering EDB (gemiddeld 25 g actief/m^2) een zeer effectieve bestrijding van de plantenaaltjes heeft gegeven. Dit geldt voor alle geslachten, die tot de *Tylenchida* behoren en die als plantenparasiet kunnen leven (*Pratylenchus*, *Tylenchorhynchus*, *Heterodera* en de overige *Tylenchida* en dus ook voor het totaal van de *Tylenchida*). De sapprofage nematoden zijn minder gevoelig en zijn in dit verband ook niet van belang.

Natriummethyl-dithiocarbamaat („Vapam"), 50 cm^3/m^2, gaf een aaltjesdoding, welke iets minder was dan die van DD en de hoge dosering van EDB; dit wordt door de cijfers van de aaltjestellingen nà het gewas bevestigd.

N 521, 22 g/m^2 gaf op dit proefveld een duidelijk minder goede nematicide werking dan de hiervoorgenoemde middelen. De opbrengst van de aardappelen was nog redelijk, doch de aaltjes-

TABEL 3

Grondontsmettingsproef Ov. 1955/1956 op zandgrond tegen verschillende soorten wortelaaltjes. Behandeling van de grond op 25 oktober 1955 (middel G op 1 december 1955)

P.	= Pratylenchus		O.	= overige Tylenchida	
T.	= Tylenchorhynchus		S.	= saprofage aaltjes	
H.l.	= Heterodera-larven		Tyl.	= Tylenchida totaal	

Objecten (4 veldjes a 10 m² per object)	*Aaltjes 1955/56 per* 4 × 100 *cm³ grond*						aardappelen 1956 kg per 4 × 10 m²
	P.	T.	H. l.	O.	S.	Tyl.	
Onbehandeld	1140	2735	355	980	12840	5210	84,5
DD, 60 cm³/m²	5	0	0	45	4930	50	142
Vapam, 50 cm³/m²	45	100	10	100	11415	255	140,5
N 521, 22 g/m²	325	450	95	435	14500	1305	128
EDB 10 vol % 120 cm³/m²	20	20	0	75	5370	115	129,5
EDB droog H 25 % 48 g/m²	1025	240	170	785	11765	2220	83,5
EDB droog V 20 % 60 g/m²	725	170	45	575	15575	1515	101,5
Nemagon 6cm³,1:9 verdund	470	240	10	370	8985	1090	103,5
N 0, 25 g/m²	880	1945	420	915	11710	4160	51
N 0, 50 g/m²	1070	1545	415	945	10985	3975	30,5
N 1, 40 g/m²	925	2010	245	905	12500	4085	68,5
G, 100 g/m²	800	355	105	320	5815	1580	84
F (1)	8,12**	13,3**			10,1**	19,28**	46,22**
$s_{\bar{x}}$ in % (2)	24,3%	32,2%			9,4%	19,1%	5,4%

(1) Variantieverhouding berekend zonder transformatie. ++ = verschillen significant bij 99%-punt.
(2) Middelbare fout.

TABEL 4

Grondontsmettingsproef Ov 1955/1956, vervolg van tabel 3
Gemiddelde doding in procenten van onbehandeld
P. = Pratylenchus Tyl. = Tylenchida totaal

Grondbehandeling 25 oktober 1955	1955/'56 na de behandeling		1956/'57 na aardappelen 1956	
	P.	Tyl.	P.	Tyl.
Onbehandeld	0	0	0	0
DD, 60 cm³/m²	99,6	99,0	100	93,4
Vapam, 50 cm³/m²	96,1	95,1	83,9	73,1
N 521, 22 g/m²	71,5	75,0	50,0	54,9
EDB 10 vol %, 120 cm³/m²	98,3	97,8	93,6	90,9
EDB droog H 25 %, 48 g/m²	10,1	10,7	8,1	10,7
EDB droog V 20 % 60 g/m²	36,4	70,9	< 0	35,5
Nemagon 6 cm³/m² 1: 9 verdund	58,8	79,1	49,3	44,6
N 0, 25 g/m²	22,8	20,2	< 0	< 0
N 0, 50 g/m²	6,1	24,3	< 0	4,1
N 1, 40 g/m²	18,9	21,6	< 0	0,5
G , 100 g/m²	29,8	69,7	< 0	< 0

populatie is na één gewas reeds weer zo sterk opgebouwd, dat in een volgend gewas aaltjesschade kan worden verwacht.

Ook de overige in de proef betrokken middelen, waarbij twee speciale vaste formuleringen van EDB, vertonen een minder goede nematicide werking. Hierbij dient te worden aangetekend, dat deze EDB formuleringen werden toegepast met ca. 12 g actief/m², een dosering, die ook bij de vloeibare formulering niet geheel toereikend bleek tegen wortelaaltjes in buitenculturen. Wanneer men de dosering, evenals bij de vloeibare, opvoert tot ca. 20 à 25 g actief/m² bieden deze aantrekkelijke formuleringen, die als droog strooipoeder over de grond verspreid worden en worden ingefraisd, wellicht perspectieven. Ook het middel Nemagon heeft in de in deze proeven gebruikte formulering en dosis onvoldoende gewerkt.

Enkele middelen gaven, vergeleken met onbehandeld wel een vermindering van de aaltjespopulatie, doch veroorzaakten desondanks een duidelijk lagere opbrengst van het aardappelgewas, ondanks de wachttijd van ca. 6 maanden. Dit moet aan een lang aanhoudende fytotoxische invloed worden toegeschreven. Dezelfde ervaring werd met deze middelen opgedaan bij een toepassing in mei op een lichte zandgrond, een grondsoort, waarop in het algemeen weinig lang fytocide invloed van de bekende ontsmettingsmiddelen merkbaar is; 6 weken na de behandeling werd peen gezaaid. Bij de oogst in november was op deze veldjes in het geheel geen plantengroei aanwezig. Als grondontsmettingsmiddel tegen aaltjes zijn ze dus volkomen onbruikbaar.

Uit de aaltjestellingen van tabel 3 blijkt, dat de nieuwe middelen, evenals DD en EDB, een weinig specifieke werking met betrekking tot de aaltjessoort tonen. Het niveau van de doding is bij de onderzochte middelen verschillend, maar bij iedere aaltjessoort zijn ongeveer gelijkluidende resultaten te zien. Uit andere proeven werd hetzelfde geconcludeerd. Het bestaan van kleine verschillen tussen de aaltjessoorten in hun gevoeligheid t.a.v. bepaalde middelen is niet uitgesloten, maar deze zullen niet van praktisch belang zijn. Voor de oudere middelen DD en EDB was ditzelfde reeds vroeger geconstateerd.

De meest belovende van de hiervoor genoemde middelen werden nog in een aantal andere proeven onderzocht, die o.a. aantasting door *Hoplolaimus uniformis* en *Heterodera carotae* in peen betroffen. De conclusies ten aanzien van de nematicide werking van deze middelen blijft dezelfde, met dien verstande, dat Vapam 50 cm³/m² en ook N 521, 22 g/m² in enige proeven de nematicide werking van DD 60 cm³/m² en van EDB 20 gram actief/m² benaderen.

Ook enkele recente grondontsmettingsproeven van andere onderzoekers wijzen in deze richting (3, 4, 10).

Als de dosis van Vapam en N 521 nog iets wordt verhoogd komen deze middelen wat de aaltjesdoding betreft wellicht met de hiervoorgenoemde op één lijn. Ook de grondsoort, de wijze van toediening en het toepassingstijdstip kunnen hierbij nog van belang zijn.

Over de fytotoxische werking van de verschillende nieuwe middelen werden o.a. aanwijzingen verkregen in een proef op klei (tabel 5). Vapam 50 cm³ heeft hier iets minder fytocide gewerkt dan DD 60 cm³ of EDB 21 g actief.

De „voorvrucht'' sla, geplant in januari, ca. 6 weken na de uitvoering van de grondontsmetting, gaf op de veldjes, behandeld met DD 60 cm³ en met EDB 10 vol. % 100 cm³ (= 21 g actief/m²) belangrijk meer schade te zien dan op de veldjes behandeld met Vapam.

Bij N 521, 22 g/m², was de fytocide werking ongeveer vergelijkbaar met die van Vapam; bij 33 g/m² was deze sterker, ongeveer gelijk aan die van DD, 60 cm³/m² of EDB 20 gram actief. Op een ander proefveld op zandgrond werd bij een zomertoepassing van

TABEL 5

Grondontsmettingsproef Vl. 1955/1956, in tomatenkas op rivierkleigrond Behandeling van de grond op 22 november 1955. Gewas sla, geplant tussen 1 en 15 januari 1956

Objecten (10 veldjes à 7,5 m² per object)	Stand van het gewas (hoog cijfer = goede stand)		Opbrengst bij de oogst op 2-7 mei 1956	
	6 april '56	28 april'56	Sortering A in % van totaal (gebaseerd op de gehele opbrengst van 10 × 7,5 m² = ± 1300 kroppen)	Opbrengst in guldens per 100 kroppen
Onbehandeld	9,0	8,4	73	15,12
DD, 60 cm³/m²	5,5	6,7	63	14,06
Vapam, 52 cm³/m²	7,5	8,0	73	14,99
N 521, 22 g/m²	6,5	8,1	73	14,84
N 521, 33 g/m²	6,4	8,0	55	14,27
EDB 10 vol. %, 100 cm³/m²	6,0	6,3	50	13,38
EDB droog H 25 %, 48 g/m²	7,7	8,6	64	14,74
EDB droog V 20 %, 60 g/m²	7,6	8,3	69	14,81
Nemagon techn. 5 cm³/m² 1 : 9 verdund	6,1	6,3	39	12,98
CBP, 38 cm³/m²	5,0	6,2	55	13,52
Betr. verschil P = 0,01	1,63	1,59	18,4	
S.D. P = 0,05	1,19	1,16	13,5	

N 521, 22 g/m², na een wachttijd van 6 weken bij peen nog een zeer sterke fytocide werking geconstateerd, welke die van DD of EDB vloeibaar 21 g actief/m² overtrof. In elk geval blijkt wel, dat bij Vapam en bij N 521 in een aantal gevallen ook een lange wachttijd nodig is tussen de behandeling en het planten of zaaien.

Samenvatting en conclusie

Bij een goede keuze van het proefveld is het mogelijk met een vrij eenvoudige proefopzet een betrouwbaar oordeel te krijgen over de nematicide werking en de praktijkwaarde van grondontsmettingsmiddelen. Met de beste middelen kunnen 98-99% van de plantenaaltjes worden gedood, hetgeen bij verschillende aaltjesaantastingen betekent, dat men gedurende verscheidene jaren goede gewassen kan telen (tabellen 2, 3 en 4). Er blijken geen belangrijke verschillen tussen de betrokken aaltjessoorten in hun gevoeligheid t.a.v. de verschillende middelen te bestaan (tabel 3).

EDB blijkt in een dosis van 90-120 cm³ 10 vol. % (= 20-25 g actief/m²) even goed nematicide te werken als DD 60 cm³/m² (tabellen 1-4). De tot nu toe bij de tomatenteelt onder glas aanbevolen doses blijken voor buitenculturen te laag te zijn. Bij behandeling van relatief zware of humeuze gronden is bij beide middelen een wachttijd van minstens 6 weken aan te bevelen.

De resultaten met Natriummethyldithiocarbamaat (Vapam) zijn veelbelovend. 50 cm³/m² lijkt een iets minder goede aaltjesdoding te veroorzaken dan de hiervoor genoemde doseringen van DD of EDB, maar dit kan wellicht met een verhoging van de dosis verbeterd worden. Er werden aanwijzingen verkregen, dat Vapam in bepaalde gevallen een minder lange wachttijd vergt tussen ontsmetting en bezaaiing of beplanting dan DD of EDB. Het is bekend, dat dit middel bovendien werkzaam is tegen bepaalde schimmels en mogelijkheden biedt als plantgoedontsmetter.

Over de mogelijkheden voor de praktijk van N 521, EDB als droog strooipoeder geformuleerd, en Nemagon kunnen wij geen oordeel geven. N 521, 22 g/m² toonde als regel een iets minder goede nematicide werking dan DD, EDB en Vapam; het middel had in enkele proeven een lange fytocide nawerking. EDB in droge poedervorm en Nemagon zullen in andere doses en/of in andere formuleringen nader moeten worden onderzocht.

SUMMARY

Comparison of some soil-desinfectants with nematicidal properties

DD at a rate of 60 cm^3/m^2 was found to be the most efficient soil disinfectant for the control of root infesting nematodes (*Pratylenchus, Hoplolaimus, Paratylenchus species*) in nursery stock and flower crops, carrots and other vegetables in the Netherlands. This has been reported at earlier symposia.

Ethylene-dibromide at the usual rate for the control of *Meloidogyne* infestation of tomatoes in glasshouses (45-60 cm^3/m^2 of 10% products = 9,5 — 12,5 g EDB/m^2) was less effective against root infesting nematodes in several crops in the open air, but at the double rate good results were obtained.

With relatively heavy or humous soils with a high water content, a lapse of 6 weeks between the treatment and the sowing or planting of the crop is advisable with both EDB (in the earlier mentioned high dosage) and DD.

Sodium-methyl-dithiocarbamate („Vapam") showed promise. At 50 cm^3/m^2 it was not quite as good as DD and EDB at killing the plant parasitic eelworms, but it showed a somewhat shorter phytotoxic period after treatment and had favourable side effects. The optimum dose for nematode control is probably somewhat higher than 50 cm^3/m^2.

3,5-dimethyl-tetrahydro- 1,3,5 2H-thiadiazine-2-thione („N 521"), at 22 g/m^2, also had a phytotoxic effect lasting several weeks after treatment of the soil and was on an average somewhat less effective against the eelworms. Nemagon and some other chemicals, including dry formulations of EDB, did nod yield satisfactory results in the doses and formulations tested, but require further examination.

All the nematicides under consideration showed a general killing effect against the different species of plant parasitic nematodes. Some conclusions are drawn on the design of field experiments with nematicides.

LITERATUUR

1. BESEMER, A. F. H. — Die Wahl eines geeigneten Nematizids. *Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,* 1955, 83, 122-128.

2. BESEMER, A. F. H. & OOSTENBRINK, M. — Phytotoxische en nematicide nawerking van grondontsmettingen met DD. *Mededelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent* 1955, 20, 279-290.

3. BIJLOO, J. D. — De nematicide werking van N 244 (3-p-chloorphenyl-5-methyl-rhodanine) en N 521 (3,5,dimethyltetrahydro-1,3,5,2H thiadiazine-2 thion). *Mededelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent* 1956, 21, 377-386.

4. KLINKENBERG, C. H. & SEINHORST, J. W. — De nematicide werking van Na N-methyl dithiocarbaminaat (Vapam) bij toepassing in de herfst. *Mededelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent* 1956, 21, 397-400.

5. KUIPER, K. — Grondontsmettingsproeven bij de teelt van peen ter bestrijding van parasitaire wortelaaltjes. *Tijdschrift over Plantenziekten* 1955, 61, 21.

6. KUIPER, K. & DRIJFHOUT, E. — Bestrijding van het wortelaaltje *Hoplolaimus uniformis* Thorne 1949 bij de teelt van peen. *Mededelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent* 1957, 22.

7. MEIJNEKE, C. A. R. — Uber die Bekämpfung der Bodenmüdigkeit bei Baumschulgewächsen mit Nematiziden. *Mitteillungen aus dem Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft* 1955, 83, 115-121.

8. OOSTENBRINK, M. — Een doelmatige methode voor het toetsen van aaltjesbestrijdingsmiddelen in grond met Hoplolaimus uniformis als proefdier. *Mededelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent* 1954, 19, 377-408.

9. OOSTENBRINK, M. & BESEMER, A. F. H. — Parasitaire aaltjes als een oorzaak van ,,wortelrot" in de snijbloemencultuur en hun bestrijding met grondontsmettingsmiddelen. *Mededelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent* 1953, 18, 335-349.

10. SEINHORST, J. W. & BIJLOO, J. D. & KLINKENBERG, C. H. — Een vergelijking van de nematicide werking van DD en van 3,5-dimethyltetrahydro-1,3,5,2H-thiadiazine-2-thion. *Mededelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent* 1956, 21, 387-395.

Prof. Dr Schuurmans Stekhoven, Nederland

V : Vraagt welke ervaring Dr Besemer heeft met betrekking tot de phytocide werking van Nemagon op het wortelstelsel van verschillende plantensoorten, daar de amerikaanse literatuur zo sterk uiteenlopende feiten hierover vermeld. Volgens sommigen is het sterk phytocide, volgens andere onderzoekingen heeft het weinig invloed?

A : Reeds werd medegedeeld dat uit de verrichte proeven geen conclusies t.a.v. de phytociditeit van Nemagon getrokken kon worden, daar naar achteraf gebleken is, een onjuiste formulering toegepast werd, waarbij de vulstof meer dan wellicht de actieve stof een phytocide werking had. Inmiddels kregen wij aanwijzingen dat andere formuleringen inderdaad in een aantal culturen een zeer geringe phytocide effect toonden, zodat slechts een korte wachttijd tussen toepassing en planten of zaaien in acht genomen behoeft te worden. Onderzoek t.a.v. nematicide werking en phytocide neveneffecten van genoemde formuleringen wordt voortgezet.

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE FUNGIZIDE UND HERBIZIDE WIRKUNG VON VAPAM IM BODEN UNTER BERÜCKSICHTIGUNG VON EINDRING-TIEFE, ADSORPTION UND KARENZZEIT

von

G. Linden und P. Schicke

Aus der wissenschaftlichen Abteilung — Pflanzenschutz — der Firma C. H. BOEHRINGER SOHN, Ingelheim/Rhein

I. Literaturdurchsicht und Fragestellung

Na-n-methyldithiocarbamat, das heute als 31%-ige Lösung unter der Bezeichnung ,,Vapam'' gehandelt wird, ist als Mittel zur Bekämpfung von Nematoden, Bodenpilzen und -insekten, Unkräutern und allgemein zu Bodensterilisierung bekannt. Schon im vergangenen Jahr wurde an dieser Stelle von Klinkenberg und Seinhorst (9) über die nematiziden Eigenschaften von Vapam bei Herbstbehandlung berichtet. In dieser Arbeit wurden weitere Untersuchungen über die Anwendungsverfahren in Aussicht gestellt. Nach der uns bekannten Literatur werden im wesentlichen folgende Verfahren zur Einbringung von Vapam in den Boden angewandt :

1) Das Einschlämmverfahren (die vorgesehene Vapammenge wird mit Wasser auf die Bodenoberfläche gegossen und nachfolgend mit grossen Wassermengen eingeschlämmt) (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10-12, 14, 15, 18, 22).
2) Das Sohlenbehandlungsverfahren und seine Abwandlungen (Vapam wird in grössere Bodentiefen durch Injektion eingebracht, Pflugsohlenbehandlung u. ä.) (5, 16, 19, 20, 21).
3) Das Mischverfahren (Vapam wird mit dem zu behandelnden Boden innig durchmischt) (13, 19).

Der Erfolg der Behandlung in nematizider (5, 9, 14, 15, 16), insektizider (7), fungizider (1, 3, 4, 10, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23), und herbizider (1, 2, 5, 6, 8, 14, 18, 21) Hinsicht wird im allgemeinen ohne kritische Betrachtung der Applikationsmethode berichtet; lediglich in zwei der uns bekannten Arbeiten wurden gleichzeitig mehrere Methoden angewandt und im Ergebnis miteinander verglichen : Lear und Thomason (12) erzielten im Einschlämmverfahren gute Wirkung gegen *Meloidogyne*-spp., nicht hingegen bei Einbringung von Vapam durch Pflug oder Scheibenegge. In einer weiteren Arbeit stellte Lear (11) fest, dass Vapam in nassem Boden an der Bodenoberfläche zurückgehalten wird, und tiefere Einwaschung nur bei ursprünglich trockenem Boden erfolgt. Die Vapam-Verteilung als Diffusion betrug unter den gegebenen Umständen seitlich 15 — 20 cm, vertikal nur 10 cm. Eine gasdichte Abdeckung des Bodens war nicht erforderlich.

Die meisten der angeführten Untersuchungen wurden mit natürlich gelagertem Boden (im folgenden als ,,gewachsene Erde'' bezeichnet) durchgeführt; die Behandlung von aufgeschütteten Erdmengen (,,Schütterde'') zum Zwecke der späteren Verwendung in Gewächshäusern wird zwar von den Herstellerfirmen empfohlen, doch gibt es unseres Wissens noch keine Untersuchung über diese Anwendung, die jedoch gerade bei uns als Ersatz für das bisher übliche Dämpfen besonderes Interesse beansprucht. Auch über die bei Vapam-Anwendung besonders zu beachtende Karenzzeit, d.h. die Zeit, in der nach Vapam-Anwendung keine Bestellung des Bodens mit Kulturpflanzen erfolgen darf, bestehen noch keine systematischen Untersuchungen, die über die Richtlinien der Herstellerfirmen hinausgingen. Hardman u. Mitarbeiter (6) geben an,

dass die Vapam-Wirkung auf Unkrautarten zwar unspezifisch ist, dass jedoch zur Vernichtung der einzelnen Arten bzw. deren Samen verschiedene Aufwandmengen erforderlich sind. Dementsprechend ist auch bei den Kulturarten unterschiedliche Empfindlichkeit gegenüber im Boden verbliebenen Restmengen von Vapam anzunehmen.

Somit ergab sich die eigentliche Frage der nachfolgenden Untersuchungen :

Wie verhält sich Vapam im Boden insbesondere in Schütterde bei verschiedenen Anwendungsverfahren?

II. Das Durchdringen des Bodens mit Vapam

1. Mangelndes Eindringen von Vapam bei Einschlämmapplikation

Die Übertragung des auf gewachsenem Boden zufriedenstellenden Einschlämmverfahrens auf die Behandlung gärtnerisch verwendeter Schütterde brachte verschiedentlich Misserfolge. Auch in eigenen Versuchen zur Bestimmung der Karenzzeit und fungiziden Wirkung in Schütterde reichte die Tiefenwirkung nicht aus, wie nachfolgende Beispiele zeigen (Tabelle 1 und 2).

TABELLE 1

Auflauf von Senf (*Sinapis alba*) auf Bodenproben verschiedener Bodenarten, die Vapam-behandelten Erdhaufen aus verschiedener Tiefe entnommen worden sind, in Prozent, bezogen auf Kontrolle = 100

Bodenart	Kompost			Sand			Sandiger Lehm		
Vapam-Dosis ml/qm	50	100	150	50	100	150	50	100	150
Erdschicht									
0– 8 cm	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8–16 cm	25	0	0	0	0	0	5	0	0
16–24 cm	50	67	50	100	14	0	100	47	0

In dem Tabelle 1 zugrunde liegenden Versuch wurden drei verschiedene Bodenarten in Form von aufgeschütteten Erdhaufen im Freiland mit Vapam behandelt. Fünf Tage nach der Applikation wurden aus drei Tiefen entnommene Bodenproben mit Senf besät. Die Auflaufzahlen zeigen, dass das Präparat bei mittlerer Dosierung nur bis in den 8 — 16 cm-Horizont vordringt, während die Überdosierung von 150 ml/qm allerdings auch in der untersten Schicht festgestellt werden kann. Das scheinbar schlechtere Eindringen von Vapam in Komposterde liess sich in weiteren Versuchen nicht bestätigen.

Tabelle 2 enthält das Ergebnis eines ähnlichen Versuches, der bei 16°C in 30 cm hohen Glaszylindern mit Erde durchgeführt wurde, die mit *Fusarium oxysporum* f. *melonis* verseucht war. Drei Tage nach der Applikation wurden hier unter sterilen Bedingungen von der Oberfläche und aus 10, 20 und 30 cm Tiefe Erdproben entnommen und in sterilem Wasser ausgeschüttelt. 1 ml dieses Wassers wurde im Plattengussverfahren unter Malzagar gemischt. Nach drei Tagen wurde der Pilzbewuchs auf den Platten anhand der gebildeten Pilzkolonien bonitiert, wobei 0 = ohne Pilzkolonie, und 5 = dicht mit Pilzkolonien besät bedeutet, während die Zahlen 1 — 4 Zwischenwerte darstellen.

TABELLE 2

Pilzbewuchs auf Agarplatten nach Rückisolierung von *Fusarium oxysporum* f. *melonis* aus Vapam-behandelter Erde, die verschiedenen Tiefen entnommen wurde. Bodenart = Torf/Komposterde-Gemisch

Behandlung	Vapam-Einschlämmung von ml/qm			Dampfsterilisierung	Kontrolle
	50	100	150		
Bodentiefe					
0 cm	0	0	0	0	5
10 cm	3	0	0	0	5
20 cm	5	4	3,5	0	5
30 cm	5	5	5	0	5

In diesem Versuch drang Vapam sogar nur 10 cm tief ein. Beide Versuche bestätigten, dass bei Einschlämmung von Vapam in die Schütterde nur eine verhältnismässig geringe Erdschicht durchdrungen wird. Diese Bestätigung der Praxiserfahrung im Versuch veranlasste uns, das Verhalten von Vapam im Boden näher zu untersuchen, um so den Gründen nachzugehen, die das Versagen des an gewachsener Erde erprobten Verfahrens an Schütterde verursachten.

2. Faktoren, die bei Anwendung des Einschlämmverfahrens das Eindringen von Vapam in den Boden beeinflussen

a) *Das Verhalten des Bodenwassers*

Das Eindringen einer Vapam-Lösung in den Boden wird bei oberflächlicher Aufgiessung den Gesetzen folgen, die überhaupt für die Wasserbewegung im Boden gelten. Der Bodenkundler unterscheidet Haftwasser und Sickerwasser. Haftwasser wird als vornehmlich hygroskopisch gebundenes Schwarmwasser und in

Form kapillar gehaltener Wassersäulen gegen die Schwerkraft im Boden festgehalten, während Sickerwasser in überkapillaren Poren, Röhren und Rissen der Schwerkraft folgend in die Tiefe ablaufen kann. In gewachsener Erde wird ein erheblicher Teil des Wassers als Sickerwasser in die Tiefe gehen, während in Schütterde die sonst vorhandenen Risse und Kanäle weitgehend zerstört sein dürften und deshalb hier dem Haftwasser die grössere Bedeutung zukommt. In der Tat konnten wir in einem Versuch mit gewachsener Erde eine Vapam-Wirkung bei einer Dosierung von 50 ml/qm noch in 25 cm Tiefe feststellen, bei Schütterde jedoch nicht, wie die oben angeführten Versuche zeigten. Bei Schütterde ohne nennenswerte überkapillare Räume dringt das Wasser so weit ein, als es die Haftwasser-Kapazitäten sättigen kann. Dass diese recht gross sind, mögen folgende Zahlen zeigen, die wir an den in unseren Versuchen stehenden Erden ermittelten.

TABELLE 3

Wasserhaltevermögen einer 10 cm hohen Schütterdeschicht von 1 qm Fläche und Eindringtiefe von 14 Ltr. Wasser je qm bei unterschiedlicher Sättigung der Wasserkapazität des Bodens

Erdart	Wasserhalte-vermögen	Eindringtiefe von 14 Ltr. Wasser bei Sättigung der Wasserkapazität von			
		0 %	25 %	50 %	75 %
Kompost-Lehm-Gemisch 1:1	61,7 Ltr.	2,3 cm	3,0 cm	3,6 cm	9,1 cm
Komposterde	42,8 Ltr.	3,3 cm	4,4 cm	6,6 cm	13,1 cm
Sand	35,0 Ltr.	4,0 cm	5,3 cm	8,0 cm	16,0 cm

Bearbeitungsfähige Böden enthalten nicht viel mehr als 50% ihrer Kapazität an Wasser. Die Zahlen zeigen, dass keine Hoffnung besteht, mit Wassermengen von 14 Ltr. pro qm das Vapam in nennenswerte Tiefen des Bodens einzuschlämmen.

b) *Die Vapamadsorption durch den Boden aus der Applikationslösung heraus*

Die Adsorption des Vapam-Wirkstoffs durch den Boden aus der Applikationslösung heraus ist ein weiterer Faktor, der das Eindringen des Präparates in den Boden begrenzt. Dass hier Bodenart und Wassersättigung von Einfluss sein werden, war anzunehmen. Es wurden deshalb mit drei Erdarten Durchlaufversuche bei verschiedenem Sättigungsgrad ihrer Wasserkapazität angesetzt, indem eine Vapammenge, die 100 ml/qm entspricht, mit soviel Wasser auf eine Bodensäule von 10 cm Höhe und 50 cm²

Fläche aufgegossen wurde, dass unten etwa 35 ml Flüssigkeit austraten. Mit diesem unten austretenden Wasser wurden Sporenkeimteste mit *Alternaria tenuis* Nees und Samenkeimteste mit Kresse (*Lepidium savitum L.*) durchgeführt. Über Eichkurven, die mittels eines bekannten Vapam-Konzentrationsgefälles erstellt wurden, konnte die Vapam-Konzentration des Auslaufwassers und damit auch die in der Erdsäule verbleibende Vapammenge bestimmt werden. Das Ergebnis dieser Versuche ist in Tabelle 4 niedergelegt.

TABELLE 4

Die in einer 10 cm hohen Bodenschicht verbleibende Vapammenge in % der applizierten Menge, berechnet nach dem Sporenkeimtest und Kressekeimtest

Testverfahren	Sporenkeimtest			Kressekeimtest		
Wassersättigung des Bodens	50 %	75 %	100 %	50 %	75 %	100 %
Bodenarten :						
Kompost-Lehm-Gemisch	98	98	99,3	98	100	100
Komposterde	89	90	100	94	95	100
Sand	99	99	100	99	100	100

Bei Berücksichtigung der Tatsache, dass es sich um zwei Teste mit ganz unterschiedlichen Testorganismen handelt, kann von guter Übereinstimmung der Werte gesprochen werden. Sie zeigen, dass nur verschwindend geringe Vapammengen in eine tiefere Bodenschicht gelangen, selbst wenn Wasser in solchen Mengen gegeben werden könnte, dass es zu einer tieferen Durchnässung des Bodens ausreichen würde. Je nässer der Boden ist, umso mehr Vapam wird festgehalten. Dass Komposterde die grösste Vapammenge durchliess, liegt wohl daran, dass die lockere Lagerung dieser Erde einen guten Teil der Lösung als Sickerwasser passieren liess. Wie weiterhin durchgeführte Karenzzeitversuche gezeigt haben, gibt Kompost Vapam schneller wieder ab als Sand.

Zur Abrundung dieses Versuchs wurde auch die gleicherweise bedeutsame Frage der Vapamauswaschung experimentell angegangen. Boden, der zu 100% seiner Kapazität mit Wasser gesättigt war, wurde mit 100 ml/qm Vapam im Einschlämmverfahren behandelt. Ein Austreten von Vapam konnte, wie Tabelle 4 zeigte, nicht beobachtet werden. Nun wurde die im Boden enthaltene Wassermenge schrittweise durch reines Wasser ersetzt und die im Auslaufwasser enthaltenen Vapammengen bestimmt. Das Ergebnis ist in Tabelle 5 niedergelegt.

TABELLE 5

Die in einer 10 cm hohen Schicht wassergesättigten Bodens verbleibende Vapammenge in Prozent der applizierten Menge, wenn 1/4, 2/4, 3/4 und 4/4 der im Boden enthaltenen Wassermenge durch frisches Wasser nach unten herausgedrückt wird

Testverfahren	Sporenkeimtest				Kressekeimtest			
Bodenwasserersatz zu x/4 Teilen	1/4	2/4	3/4	4/4	1/4	2/4	3/4	4/4
Bodenarten :								
Kompost-Lehm-Gemisch	100	97,1	94,3	91,4	100	96,8	92,2	88,9
Komposterde	100	99,2	98,5	98,0	100	94,6	89,1	83,7
Sand	100	98,0	96,1	94,3	100	96,6	93,2	89,8

Das einmal im Boden festgehaltene Vapam lässt sich auch nicht nachträglich mit Wasser auswaschen. Hieraus ergibt sich die Konsequenz für unser bisher übliches Einschlämmverfahren, dass Vapam in der allerobersten Erdschicht festgehalten wird, selbst wenn nach der eigentlichen Applikation 10 Ltr. Wasser pro qm nachgegossen werden. Das Nachgiessen von Wasser nach der eigentlichen Applikation kann daher nur den Zweck haben, durch Anlage einer nassen Zone und leichtes Verschlämmen des Bodens den Gasaustausch zwischen Bodenluft und Atmosphäre zeitweilig zu unterbinden und damit das Vapam im Boden zurückzuhalten. Dass die geringen, in tiefere Bodenschichten eingeschlämmten Vapammengen wirkungslos bleiben, zeigte folgender Erdbehandlungsversuch, bei dem Vapam in abgestuften Mengen unter mit *Fusarium oxysporum* f. *dianthi* verseuchte Erde gemischt wurde (Tab. 6).

TABELLE 6

Pilzbewuchs auf Agarplatten nach Rückisolierung von *Fusarium oxysporum* aus Vapam-behandelter Erde, die verschiedenen Tiefen entnommen wurde. Rückisolierung 2 Tage nach Applikation

Behandlung	*Vapam-Untermischung von ml/qm*				Kontrolle
	12,5	25	50	100	
Bodentiefe : 0 cm	5	5	0	0	5
10 cm	5	5	0	0	5
20 cm	5	5	0	0	5
30 cm	5	5	0	0	5

25 ml/qm zeigten in diesem Versuch bereits keine Wirkung mehr. Die nach den Tabellen 4 und 5 in den Untergrund gelangten Vapammengen dürften jedoch noch wesentlich niedriger sein.

c) *Vapam-Tiefenwirkung über die progressive Konzentrationsverschiebung in vertikaler Richtung durch die flüssige und dampfförmige Phase.*

In den vorangegangenen Abschnitten konnte gezeigt werden, dass der Einschlämmvorgang selbst das Vapam in den obersten Bodenschichten zurücklässt. Das hier zunächst adsorbierte Vapam wird dann aber wieder desorbiert und dringt — abgesehen von dem Teil, der an die Atmosphäre verloren geht — tiefer in den Boden ein. Dieses Eindringen kann durch Diffusion über die flüssige oder infolge der Dampfspannung über die dampfförmige Phase vor sich gehen. Die flüssige Phase setzt ein zusammenhängendes Wassergerüst im Boden voraus, die dampfförmige luftgefüllte Hohlräume. Im Boden werden wohl beide Prinzipien vorliegen. Sie beruhen auf dem Gesetz der progressiven Konzentrationsverschiebung mit dem Ziel des Konzentrationsausgleichs. Diffusion, Desorption und Dampfdruck steigen mit ansteigender Temperatur. Hemmend auf die Bodendurchdringung nach diesem Prinzip wirkt die Adsorption, die mit steigender Bodenfeuchtigkeit und fallender Temperatur wächst. Soweit die theoretischen Grundbetrachtungen. Zwischen diesen verschiedenen Faktoren, zu denen auch noch die Einwirkzeit und die Dosierung hinzukommen, wird sich ein Gleichgewichtszustand einstellen, der seinen Ausdruck schliesslich in der maximalen Eindringtiefe findet, die für uns von entscheidender Bedeutung ist. Sie lässt sich kaum berechnen, einfach aber im Versuch ermitteln.

30 cm hohe Glaszylinder wurden mit einem Komposterde/Lehm-Gemisch gefüllt und im Abstand von 5 cm je mit 25 Kressesamen und 6 *Fusarium*-durchwachsenen Papierscheibchen versehen. Die oberste Erdschicht von 5 cm Stärke wurde mit den angegebenen Vapam-Mengen gleichmässig durchmischt. Nach der Applikation wurden die Zylinder abgedeckt und nach Ablauf einer Reihe von Tagen Schicht um Schicht entleert. Die dabei anfallenden Papierscheibchen wurden auf Malzagar ausgelegt und die Erde mit den Samen in Schalen zum Keimen aufgestellt. Der Versuch sollte das Eindringen von Vapam in Abhängigkeit von folgenden Faktoren klären :

Bodenfeuchtigkeit (0%, 30%, 60%, 100% relative Wassersättigung)

Bodentemperatur (6° und 20° C),

Einwirkzeit (6 und 11 Tage), und

Vapamkonzentration (50, 100 und 150 ml/qm).

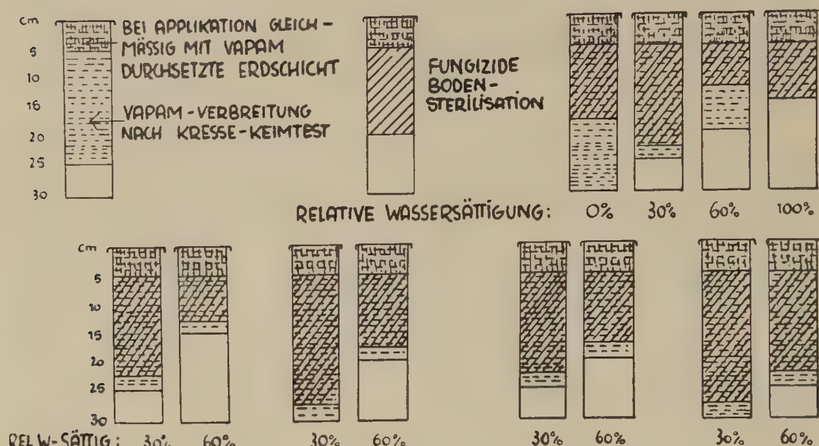


Abb. 1. — Die Abhängigkeit des Vapam-Eindringens in den Boden von der *Bodenfeuchtigkeit* = Vapam dringt umso tiefer in den Boden ein, je trockener dieser ist. 60%ige Sättigung des Wasserkapazität verringert die Eindringtiefe bereits erheblich.

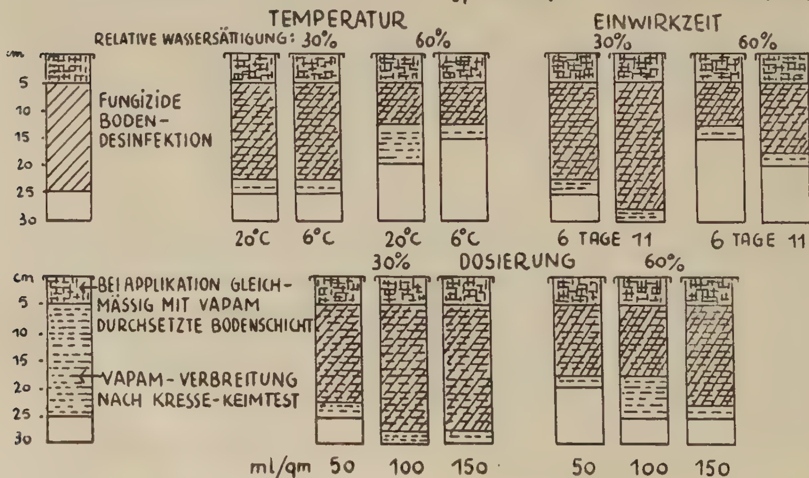


Abb. 2. — Die Abhängigkeit des Vapam-Eindringens in den Boden von der *Temperatur* = Vapam dringt umso tiefer ein, je höher die Temperatur; *Einwirkzeit* = Vapam dringt umso tiefer ein, je länger es ungestört einwirken kann; *Dosierung* = Vapam dringt umso tiefer ein, je höher es dosiert wird.

Die Verbindung des mykologischen Testes mit dem Kressekeimtest in einem Versuch bringt nicht nur die Bestätigung des einen Ergebnisses durch das andere, sondern vermittelt auch eine vertiefte Einsicht, da zwischen beiden Testen ein prinzipieller Unterschied besteht : während die Papierplättchen beim Entleeren der Zylinder der Vapam-Einwirkung entzogen werden, bleiben die Kressensamen dieser auch dann noch ausgesetzt. Da die Vapam-Wirkung erst nach einer gewissen Einwirkzeit eintritt und diese bei den Papierblättchen bei Herausnahme abgelaufen sein muss, sollen sie desinfiziert sein, gibt der Papierblättchentest Eindringzeitpunkt plus Einwirkzeit an. Der Kressekeimtest dagegen gibt nur den Zeitpunkt des Eindringens an. Aus dem Unterschied zwischen Kressekeim- und Fungizidtest konnte bei geeigneter Versuchanstellung auf die Dauer der obligatorischen Einwirkzeit hinsichtlich der fungiziden Wirkung geschlossen werden.

Das Ergebnis des Versuches ist auf den Abbildungen 1 und 2 graphisch dargestellt worden.

Vapam dringt um so tiefer in den Boden ein, je trockener dieser ist, je höher seine Temperatur liegt, je länger es ungestört einwirken kann und je höher es dosiert wird. Soweit entspricht das Ergebnis unseren theoretischen Überlegungen. Welcher der Faktoren aber hat den stärksten Einfluss auf die Tiefenwirkung? Zweifellos spielt hier die Bodenfeuchtigkeit die Hauptrolle. Vollkommene Durchdringung der 25 cm hohen, nicht behandelten Erdschicht trat nur bei 0% und 30% relativer Wassersättigung ein. Unterschiede zwischen den übrigen Faktoren kommen vielfach nur da zum Ausdruck, wo das Eindringen durch hohe Bodenfeuchte gehemmt ist. Man kann geradezu sagen, dass bei gegebener niedriger Bodenfeuchte eine niedrige Dosierung, kurze Einwirkzeit und die Inkaufnahme niedriger Temperaturen noch zum Erfolg führen, dass aber bei hoher Bodenfeuchte eine Erhöhung der Dosis, eine Verlängerung der Einwirkzeit und die Vermeidung zu niedriger Temperaturen notwendig sind, um gleiche Wirkung zu erzielen. Solch hohe Bodenfeuchte aber hat in den eingangs beschriebenen Versuchen vorgelegen und gibt eine weitere Erklärung für das Versagen der Einschlämmungsversuche.

Weiterhin ist interessant, dass die genannten Faktoren einander vertreten können. Das Ziel der zur Zeit laufenden Versuche ist, die hier angeführten Versuchserfahrungen zu ergänzen und so zu einer konkreten Empfehlung hinsichtlich Dosis, Einwirkzeit und Schichthöhe bei gegebener Feuchtigkeit und Temperatur zu kommen.

3. Das Mischverfahren und die Sohlenbehandlung, zwei weitere Applikationsmethoden

Da das Einschlämmverfahren nur unter ganz bestimmten Voraussetzungen befriedigt, wurden zwei weitere Applikations-

methoden, die speziell bei gärtnerischer Anzuchterde möglich sind, eingehend untersucht. Es handelt sich dabei um das *Mischverfahren*, bei dem Vapam, in 4 Ltr. Wasser/qm gelöst, oben auf den zu behandelnden Erdhaufen gegossen und anschliessend durch zweimaliges Umschaufeln untergemischt wird, und das *Sohlenbehandlungsverfahren*, bei dem Vapam, in 4 Ltr. Wasser/qm gelöst, auf eine 5 cm hohe Erdschicht aufgegossen wird, auf die anschliessend die restliche zu desinfizierende Erde bis zur Höhe von 25 cm aufgeschichtet wird.

Für Labor-Modellversuche wurde Verfahren *b*) dahingehend abgeändert, dass bei Verwendung von Glaszylindern die entsprechende Vapammenge durch eine Öffnung in der Wandung des Zylinders auf 20 cm Erdtiefe injiziert wurde.

a) *Laborversuche*

Das Ergebnis eines Laborversuchs mit *Rhizoctonia-solani*-verseuchter Erde zeigte (Tabelle 7), dass diese beiden Applikationsverfahren durchaus erfolgversprechend sind. Die Temperatur bei diesem Versuch betrug 20°C.

TABELLE 7

Pilzwuchs auf Agarplatten nach Rückisolierung von *Rhizoctonia solani* aus Erde, die nach dem Misch- und Sohlenbehandlungsverfahren mit Vapam behandelt worden war

Behandlung	Vapam-Injektion auf 20 cm Tiefe									Vapam-Untermischung		
Entnahme Tage nach Applik.	1			3			5			1		
Vapam-Dosis :	50	100	150	50	100	150	50	100	150	50	100	150
Boden= 0 cm	3	3	3	5	4	0	4	0	0	0	0	0
tiefe 10 cm	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20 cm	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30 cm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Ein zweiter Versuch unter Anwendung des Mischverfahrens war bereits in anderem Zusammenhang in Tabelle 6 mitgeteilt worden.

In beiden Versuchen trat nach Anwendung des Mischverfahrens die Wirkung bereits bei einer Dosis von 50 ml/qm schlagartig auf einer Tiefe von 30 cm ein.

Das Sohlenbehandlungs- oder Injektionsverfahren wirkte erklärlicherweise nicht so schlagartig, weil das Vapam erst in die

höheren Bodenschichten eindringen musste. Dennoch ist auch hier nach 5 Tagen bei 100 und 150 ml/qm der ganze Bodenhorizont desinfiziert.

b) *Praxisversuche*

Diese positiven Ergebnisse ermutigten uns zu einem grösseren Erdbehandlungsversuch im Freien. Erdhaufen mit einem Volumen von je 1/4 cbm (1 qm × 25 cm Höhe) wurden durch Bretter abgetrennt und nach den drei oben beschriebenen Applikationsverfahren mit 100 ml/qm Vapam behandelt. Für jedes Verfahren waren zwei Haufen vorgesehen, von denen der eine offen liegenblieb, der zweite aber abgedeckt wurde. Zwei unbehandelte Haufen dienten als Kontrolle. 6 Stunden, einen Tag, 2 Tage, 3 Tage und 4 Tage nach der Applikation wurden Erdproben entnommen. Die Entnahme erfolgte für die Prüfung auf fungizide Wirkung unter möglichst sterilen Bedingungen von der Oberfläche, aus 12 cm Tiefe und aus 24 cm Tiefe. Für die herbizide Prüfung

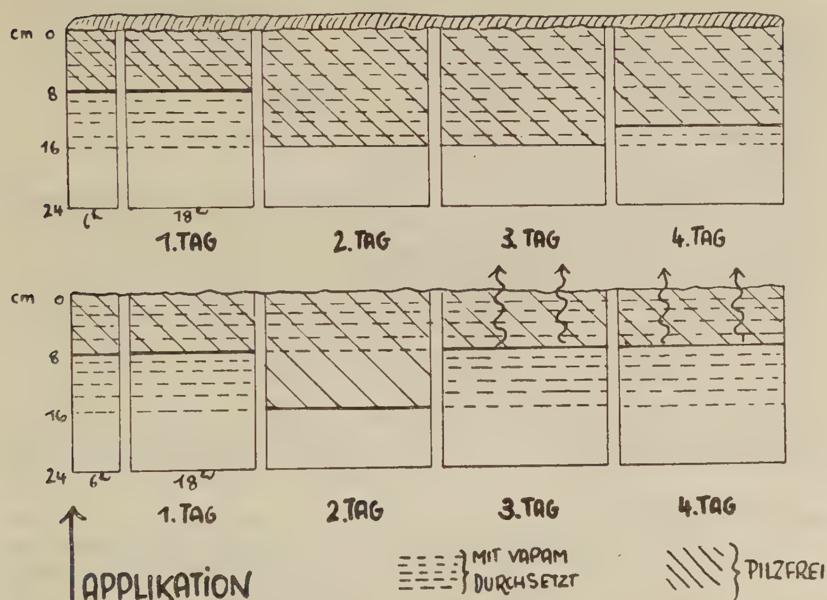


Abb. 3. — Einschlämmverfahren : Vapam dringt alsbald nach der Applikation auf 16 cm Tiefe vor. Die Desinfektion folgt dem Vapam im Abstand der obligatorischen Einwirkzeit von etwa 2 Tagen. Die Abdeckung der Erdhaufen wirkt sich günstig auf eine einheitlich tiefe fungizide Wirkung aus, die in dem nichtabgedeckten Haufen nicht eingetreten ist.

wurden die Schichten 0 — 8, 8 — 16 und 16 — 24 abgetragen. Im mykologischen Test wurde auf das Vorhandensein lebenden Pilzmyzels geprüft, im herbiziden Test auf Keimhemmung von Kressesamen. Über die unterschiedliche Aussagekraft beider Testverfahren haben wir uns bereits oben ausgelassen. Hier sei nur darauf hingewiesen, dass die sich aus der Differenz zwischen Zeitpunkt des Eindringens und des Eintretens der Wirkung ergebende obligate Einwirkzeit etwa 2 Tage betrug.

Das Ergebnis des Versuches ist auf den Abbildungen 3 — 5 raumzeitlich dargestellt. Die Wassersättigung des Bodens in dem Versuch betrug 45%, die Bodentemperatur 6 — 8°C.

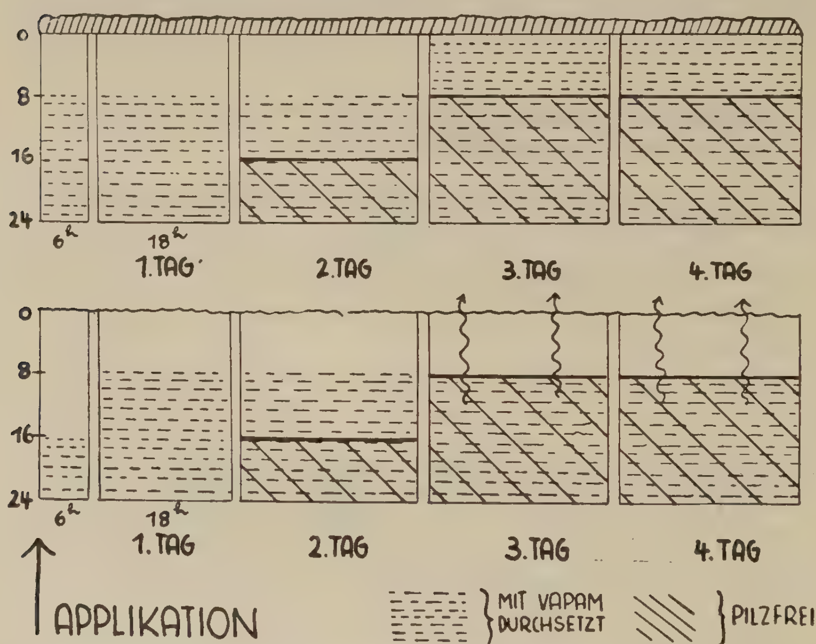


Abb. 4. — Sohlenbehandlung : Das auf die Sohle des Erdhaufens applizierte Vapam dringt am ersten Tag bereits 20 cm hoch vor und erreicht nach drei Tagen die Oberfläche. Die dort beim offenen Erdhaufen stattfindende Vapamverdunstung ist jedoch grösser als der Nachschub aus der Tiefe. Deshalb reichert sich beim offenen Kasten das Vapam in der obersten Bodenschicht nicht in einem solchen Masse an, dass es die Kressekeimung verhindern könnte. Eine fungizide Wirkung konnte in der obersten Bodenschicht nicht mehr festgestellt werden, weil am 4. Tage (= letzte Probenentnahme) die obligatorische Einwirkzeit noch nicht abgelaufen war.

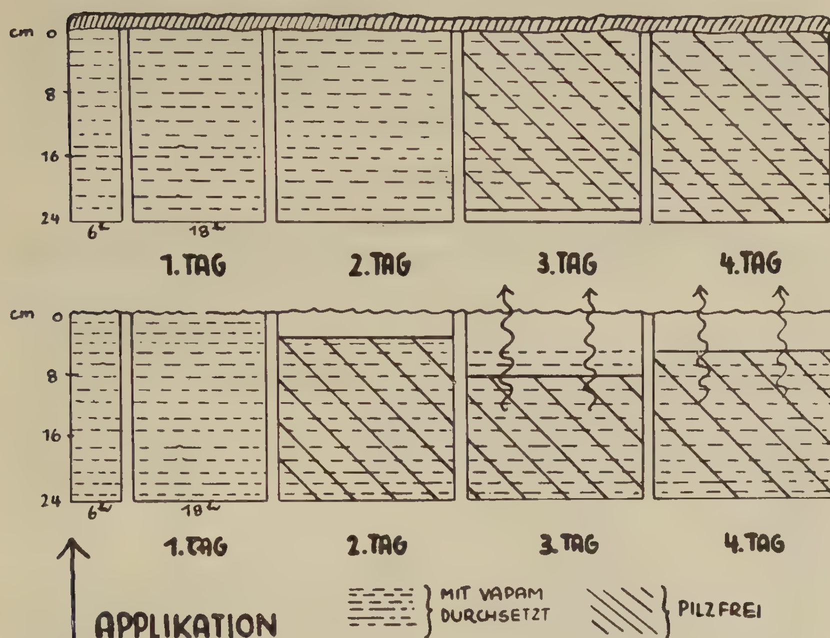


Abb. 5. — Mischverfahren : Vapam kann sofort nach der Applikation in allen Bodenschichten nachgewiesen werden. Die fungizide Wirkung dagegen wird mit der bekannten Verzögerung erst am 3. Tage festgestellt. In Erdhaufen ohne Abdeckung setzt sofortige Verdunstung ein. Da die Vapamkonzentration des behandelten Bodens bei gleichmässiger Verteilung des Wirkstoffs über den ganzen Erdraum natürlich geringer sein muss als etwa die Vapamkonzentration der obersten Bodenschicht beim Einschlämmverfahren, wirkt sich die Verdunstung nachteilig aus. Sie verringert den Vapamgehalt vor Ablauf der obligatorischen Einwirkzeit zo stark, dass eine vollständige Desinfektion der obersten Bodenschicht nicht erzielt wird.

III. Untersuchungen über die Karenzzeit

Die Untersuchungen über die Karenzzeit können hier als Ergänzung zu dem Vorhergehenden nur kurz in ihren wichtigsten Ergebnissen berichtet werden.

1. Karenzzeit bei verschiedenen Pflanzenarten

6 cm hohe, mit einer zu gleichen Teilen aus Lehm und Kompost bestehenden Kulturerde gefüllte Holzkästen wurden nach dem Einschlämmverfahren mit Vapam zu 100 und 150 ml/m² behandelt und im Gewächshaus bei Temperaturen zwischen 15 und 25°C aufgestellt. In bestimmten Abständen nach der Behandlung wurden ohne vorherige Durchmischung des Bodens

15 Arten Nutz- und Zierpflanzen in den behandelten Boden eingesät und die Anzahl aufgelaufener Pflanzen sowie deren Wachstum im Vergleich zu im Autoklaven durch Dampf sterilisierter Erde festgehalten. In der folgenden Übersicht ist für die einzelnen Arten die Anzahl Tage nach der Behandlung angegeben, nach denen die Pflanzen in Auflauf und Wachstum denen in durch Dampf sterilisierter Erde entsprachen.

TABELLE 8

Karenzzeiten für einige Gemüse- und Zierpflanzenarten

	Pflanzenart	Karenzzeit in Tagen bei Vapam-Dosis von 100 ml/qm	150 ml/qm
Kohlrabi	(*Brassica oleracea* var. *gongylodes*)	7	7
Wirsing	(*Brassica oleracea* var. *sabauda*)	7	7
Goldlack	(*Cheiranthus cheiri*)	7	7
Zwiebeln	(*Allium cepa*)	7	14
Gartenkresse	(*Lepidium sativum*)	7	14
Löwenmäulchen	(*Anthirrhinum majus*)	14	14
Aster	(*Aster spp.*)	14	14
Rotkohl	(*Brassica oleracea* var. *capitata f. rubra*)	14	14
Gurke	(*Cucumis sativus*)	14	14
Möhre	(*Daucus carota*)	14	14
Senf	(*Sinapis alba*)	14	14
Massliebchen	(*Bellis perennis*)	24	üb. 24
Nelke	(*Dianthus spp.*)	24	üb. 24
Salat	(*Lactuca sativa*)	24	üb. 24
Salbei	(*Salvia off.*)	24	üb. 24

Die Übersicht zeigt deutlich, in welchem Masse die einzelnen Pflanzenarten unterschiedlich empfindlich gegenüber Restmengen von Vapam im Boden sind. Die höheren Aufwandmengen von 150 ml/qm erfordert vielfach eine längere Karenzzeit.

In weiteren hier nicht beschriebenen Versuchen wurde festgestellt, dass die Saat ein und derselben Pflanzenart in mit Vapam behandelten Boden eher erfolgen kann als die Pflanzung; von ausserordentlicher Bedeutung für die Länge der Karenzzeit ist die Temperatur. In mehreren Versuchen bedingte ein Unterschied der Lufttemperatur von 1,5° eine um eine Woche verlängerte Karenzzeit der kälteren Versuchsreihe.

2. Karenzzeit bei Herbstbehandlung mit Vapam im Freiland

In zwei Versuchen wurde Schütterde (25 cm hoch) am 16.11. und 29.11.1956 mittels Einschlämmverfahren mit Vapam in Aufwandmengen von 50 bis 150 ml/qm behandelt und von Januar an durch Probeeinsaat im Gewächshaus auf Restmengen von

Vapam untersucht. Unter den Bedingungen des verhältnismässig milden Winters ohne Schneebedeckung waren je nach Bodenart und Dosierung 3 — 5 Monate zum restlosen Entweichen von Vapam aus dem behandelten Boden erforderlich, d.h. bei Behandlung Mitte November konnte eine Einsaat der Nutzpflanzen frühestens Mitte Februar erfolgen. Hochmoortorf bedarf von allen Bodenarten der längsten Karenzzeit.

IV. Zusammenstellung von Vapam-Ergebnissen gegen Bodenpilze

Im Rahmen der oben beschriebenen Versuche wurde Vapam im Erdtest mit Glaszylindern gegen verschiedene Bodenpilze getestet. Die erfolgreich bekämpften Bodenpilze, das in dem jeweiligen Versuch angewendete Verfahren und die Konzentration, die ein zufriedenstellendes Ergebnis brachte, seien hier noch einmal aufgeführt :

TABELLE 9

Bodenpilze, gegen die Vapam mit Erfolg getestet wurde

Name des Bodenpilzes	Applikationsverfahren und Dosis		
	Einschlämm-verfahren	Mischver-fahren	Sohlenbe-handlung
Fusarium sp.			150*)
Fusarium oxysporum f. *dianthi*		50	
Fusarium oxysporum f. *melonis*	100		
Penicillium sp.		100	
Phoma betae	100*)		
Pythium ultimum		50	
Rhizoctonia solani	50	50	100

Die Dosierungsangaben zeigen, dass 100 ml/qm Vapam eine durchaus sichere Anwendungsempfehlung ist. Möglicherweise wird man bei Anwendung des Mischverfahrens sogar mit der Dosis heruntergehen können, doch ist zur Klärung dieser Frage weitere Versuchsarbeit nötig.

(*) Geringere Dosierungen wurden in dem betreffenden Versuch nicht angewendet.

V. Besprechung der Ergebnisse

Die in Abschnitt II dargelegten Verhältnisse erklären den unterschiedlichen Wert, den das Einschlämmverfahren haben kann, je nachdem es auf gewachsenem Boden oder auf Schütterde angewandt wird, und je nachdem der Boden trocken oder nass ist. Für die zufriedenstellende Wirkung auf gewachsenem Boden sorgt nicht nur das tiefere Einschlämmen über Bodenrisse und -kanäle, sondern auch der Umstand, dass die Vapamlösung beim Versickern längst nicht mit einer so grossen Bodenoberfläche in Berührung kommen dürfte wie beim kapillaren Eindringen. Dadurch könnte auch die Wirkstoffadsorption durch den Boden verringert sein. Die in tiefere Bodenschichten gelangte, weniger geschwächte Vapamlösung kann dann in der Tiefe verdunsten und ähnlich wie im Sohlenbehandlungsverfahren von unten her wirken. Diese Wirkmöglichkeit ist bei Anwendung des Einschlämmverfahrens an Schütterde nicht zu erwarten. Sie kann jedoch künstlich eröffnet werden durch Verwendung eines Applikationsverfahrens, das den Wirkstoff von vornherein auf die Sohle des zu behandelnden Erdhaufens bringt oder, was noch besser ist, ihn gleichmässig mit der Erde vermischt. Der wichtigste Weg der Vapamdurchsetzung einer gegebenen Erdmenge ist die progressive Konzentrationsverschiebung vor allem durch die dampfförmige Phase. Die beschriebenen Versuche zeigen, dass Vapam auf diesem Wege umso tiefer eindringt, je trockener der Boden ist. Bei höherer Bodenfeuchtigkeit wird die Eindringtiefe erheblich verringert; in diesem Falle kommt die Abhängigkeit des Vorgangs von Temperatur, Einwirkzeit und Dosierung zum Ausdruck. Eine genaue Beachtung der genannten Faktoren bei der praktischen Anwendung lässt Fehlschläge bei der Vapam-Behandlung mit Sicherheit ausschliessen.

Das zeitweise Abdecken behandelter Erdhaufen für 4 — 5 Tage erscheint bei jeder Behandlungsmethode von Vorteil, sei es, um beim Einschlämmverfahren die Entspannung des sich bildenden Vapam-Dampfdruckes nur nach unten zu gestatten, sei es, um beim Sohlenbehandlungs- und Mischverfahren die zur Wirkung nötige Vapam-Konzentration für die Zeitdauer der obligatorischen Einwirkzeit auch in der obersten Bodenschicht aufrechtzuerhalten.

Der Einfluss verschiedener Erdarten auf das Verhalten von Vapam im Boden ist geringer als man von vornherein annehmen möchte. Zwar ist es so, dass Sand das geringste Wasserhaltevermögen hat und daher hier die Applikationslösung am tiefsten eindringt. Dafür kann sich aber nasser Sand sehr dicht lagern, während Komposterde wohl mehr Hohlräume enthält und deshalb keinen so starken Filtereffekt hervorruft wie Sand. Jedenfalls wird bei Komposterde nicht so viel Vapam in der obersten Bodenschicht

zurückgelassen wie bei Sand. Andererseits entweicht Vapam aus der Komposterde auch schneller, sodass hier Einsaaten früher vorgenommen werden können. Die Temperatur scheint bei sonst für das Eindringen günstigen Bedingungen von untergeordneter Bedeutung zu sein.

Die Karenzzeit ist artenspezifisch. Es konnten drei Gruppen von Kulturpflanzen gebildet werden, die unter den gegebenen Umständen eine Karenzzeit von 7 oder 14 oder 24 Tagen benötigen bei Anwendung von 100 ml/qm. Höhere Dosierungen erfordern meist eine längere Karenzzeit, Pflanzungen eine längere als Einsaat, niedere Temperaturen eine längere als hohe, nasser Boden eine längere als trockener. Die Karenzzeit ist gleicherweise abhängig von den Applikationsverfahren. Das Mischverfahren gestattet früher eine Kultur als Einschlämmen und Sohlenbehandlung.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden einige Faktoren untersucht, die das Durchdringen des Bodens mit Vapam und in Abhängigkeit davon die fungizide und herbizide Tiefenwirkung und die Karenzzeit beinflussten. Folgende Feststellungen können getroffen werden :

1. Bei Behandlung von Schütterde ist das bei gewachsener Erde gut beurteilte Einschlämmverfahren hinsichtlich Tiefenwirkung und unter Umständen des Wirkstoffverbrauchs nicht so leistungsfähig wie andere Applikationsmethoden, weil die Einschlämmtiefe auf die Bodenschicht beschränkt ist, die mit der applizierten Wassermenge gesättigt werden kann und weil beim Durchlaufen der Vapam-Lösung der Wirkstoff in der obersten Bodenschicht festgehalten wird.

2. Vapam dringt über die Einschlämmzone hinaus infolge Konzentrations- und Dampfdruckgefälle in tiefere Schütterdeschichten ein, wobei die Regel gilt : Je trockener der Boden, umso tiefer das Eindringen. Hierbei werden aber selten Tiefen über 20 cm erreicht.

3. Bei der Behandlung von Schütterde versprechen eine Sohlenbehandlung oder das Mischverfahren eine sichere Wirkung und unter Umständen Wirkstoffeinsparung.

4. Zeitweilige Abdeckung unmittelbar nach der Behandlung ist zu empfehlen.

5. Die nach der Vapam-Behandlung erforderliche Karenzzeit für die Einsaat von Nutz- und Zierpflanzen ist bei den einzelnen Arten unterschiedlich. Besonders empfindlich und darum als Testpflanze für den Vapam-Nachweis geeignet ist z.B. Kopfsalat. Für das Einsetzen von Pflanzen in behandelten Boden muss eine längere Karenzzeit als für Saaten eingehalten werden. Auch zwischen den Bodenarten bestehen Unterschiede. Von besonderer Bedeutung ist die Temperatur. Erdhaufenbehandlung im Freiland ist spätestens im Oktober durchzuführen; bei Behandlung im November können empfindliche Pflanzen erst im März eingesät werden. Die Karenzzeit ist gleicherweise abhängig von den Applikationsverfahren. Das Mischverfahren gestattet früher eine Kultur als Einschlämmen und Sohlenbehandlung.

6. Vapam wirkt in Laborversuchen bei Applikation von 100 ml/qm zufriedenstellend gegen : *Fusarium* sp., *Fusarium oxysporum* f. *dianthi*, *Fusarium oxysporum* f. *melonis*, *Penicillium* sp., *Phoma betae*, *Pythium ultimum*, und *Rhizoctonia solani*.

RESUME

On a examiné quelques facteurs qui ont une influence sur la pénétration du sol par VAPAM et par suite sur l'action herbicide et fongicide en profondeur et la période de repos. Voici ce qui a été constaté :

1. Dans le procédé de détrempage du sol la profondeur de détrempage reste limitée aux couches qui peuvent être saturées par les quantités d'eau utilisées. En outre lors de la pénétration de VAPAM, le principe actif est retenu dans les couches supérieures. Ainsi le traitement du sol labouré par le procédé de détrempage ne sera pas aussi efficace que d'autres méthodes d'application quant à l'action en profondeur et la consommation de principe actif.

2. Par suite de l'abaissement de la concentration et de la pression de vaporisation VAPAM pénètre à travers la zone de détrempage dans les couches plus profondes du sol labouré selon la règle suivante : plus le sol est sec, plus la pénétration est profonde. Cependant on n'atteint que rarement des profondeurs supérieures à 20 cm.

3. En traitant du sol labouré un traitement de la couche mince se trouvant immédiatement sur le support ou un traitement par le procédé de mélange assurent une action certaine et, selon les cas, une économie de principe actif.

4. Il est cependant recommandé de couvrir le sol une certaine période après le traitement.

5. Le temps de repos nécessaire après un traitement au VAPAM pour semer des plantes utiles ou d'agrément diffère selon les espèces. La laitue par exemple, qui est particulièrement sensible, est choisie comme plante d'essai pour trouver les traces de VAPAM. Pour repiquer des plantes dans le sol traité, il est nécessaire d'observer un temps de repos plus long que pour les semences. Des différences sont également observées selon les sols. La température joue un rôle particulièrement important. On doit faire le traitement de la terre mise en tas en plein champ au plus tard en octobre. Si l'on fait le traitement en novembre les plantes sensibles ne peuvent être semées qu'en mars.
   De même la période de repos dépend de la méthode d'application. Le procédé de mélange permet la culture plus tôt que le procédé de détrempage et que le traitement de la première couche mince se trouvant sur le support.

6. VAPAM offre des résultats satisfaisants lors d'essais en laboratoire avec une dose d'application de 100 ml/m² contre les champignons suivants : *Fusarium* sp., *Fusarium oxysporum* f. *dianthi*, *Fusarium oxysporum* f. *melonis*, *Penicillium* sp., *Phoma betae*, *Pythium ultimum* et *Rhizoctonia solani*.

SUMMARY

Some factors influencing the Vapam penetration in the soil and — consequently — the fungicidal and herbicidal effect in the soil as well as the waiting period after treatment have been investigated. The following can be stated :

1. When using the drenching method the depth of drenching is limited to that soil layer which can be saturated with the amount of water applied. The active ingredient of the Vapam solution is however absorbed by the upper soil layers when flewing through the soil. This is the reason why the treatment of loose soil by the drenching method cannot be so efficient as other methods of application as far as the efficacy in deeper zones of the soil and the quantities of active substance involved are concerned.

2. Vapam penetrates deeper into the soil than the actual ,,wetted soil" due to the concentration and vapor pressure scope. It has been found that the penetration is deeper the dryer the soil is. Depths above 20 cms have seldom been noticed.

3. When treating loose soil it is advisable to apply a sole-treatment or the admixing procedure which promise sure effect and under certain circumstances parts of the toxicant can also be saved.

4. Temporary covering of the treated soil immediately after treatment is recommended.

5. The waiting time after Vapam treatment which is necessary prior to seeding of crops and ornamentals differs with the various species. Especially susceptible is for instance lettuce which therefore is suitable for determination of Vapam in case of planting into treated soil. A longer waiting time is to be observed than in case of seeding. Also between soil types there are differences. Temperature is of special importance. Treatment of soil heaps in the field have to be carried out latest in October; when treating in November susceptible plants can only be sown in March. Furthermore, the waiting time depends also from the method of application. The admixing method results in a shorter waiting time than the drenching method or the sole treatment.

6. Vapam has a satisfying action in laboratory tests against *Fusarium* sp., *Fusarium oxysporum* f. *dianthi*, *Fusarium oxysporum* f. *melonis*, *Penicillium* sp., *Phoma betae*, *Pythium ultimum* and *Rhizoctonia solani* when applying 100 ml/sq. metre.

1. BIVINS, J. L. & KOFRANEK, A. M. — New soil fumigant : Increased growth of crop plants with weed killer of low toxicity to humans. — *California Agriculture*, Sept. 1955.
2. BIVINS, J. L. & KOFRANEK, A. M. — Vapam weed control in *Cymbidium* beds. — *Am. Orchid Soc. Bull.* **24**, 467-468, 1955.
3. ERSPAMER, J. L. & ZENTMYER, G. A. — Effect of Vapam as a soil fungicide in control of *Phytophtora* root rot of avocado trees (Abstract). — *Phytopath.* **46**, 636, 1956.
4. FINK, H. C. — Vapam and P.C.N.B. soil treatments for potato scab control. — *Plant Dis. Reptr.* **40**, 190-192, 1956.
5. GRAHAM, T. W. — Weed and root-knot control in tobacco plant beds by surface drench and other treatments. — *Plant Dis. Reptr.*, **40**, 1041-1044, 1956.
6. HARDMAN, N. F. & SHAFER, W. B. — Vapam — a temporary soil sterilant. — *Cal. Weed Conf. Proc.*, **7**, 38-39, 1955.
7. JEFFERSON, R. N., BALD, J. G., MORISCHITA, F. S. & CLOSE, D. H. — Effect of Vapam on *Rhizoglyphus* mites and gladiolus soil diseases. — *J. Econ. Ent.* **49**, 584-589, 1956.
8. KAVANAUGH, J. M. & FREEMAN, J. F. — Pre-seeding soil treatments for control of weeds in tobacco plant beds. — *Res. Rept. North Central Weed Control Conf.*, **13**, 156-157, 1956.
9. KLINKENBERG, C. H. & SEINHORST, J. W. — De nematicide werking van Na N-methyl dithiocarbaminaat (Vapam) bij toepassing in de herfst. — *Mededelingen Landbouwhogeschool Opzoekingsstations Staat te Gent*, **21**, 397-400, 1956.
10. LAUTZ, W. — Efficacy of soil treatments with nine chemicals in tobacco black shank control. — *Plant Dis. Reptr.*, **40**, 855-860, 1956.
11. LEAR, B. — Results of laboratory experiments with Vapam for control of nematodes. — *Plant Dis. Reptr.*, **40**, 847-852, 1956.
12. LEAR, B. & THOMASON, I. J. — Control by soil fumigation of root-knot nematodes affecting fresh fruit and canning tomatoes in California. — *Plant Dis. Reptr.*, **40**, 981-986, 1956.
13. MAGIE, R. O. — Gladiolus stromatina disease controlled by soil treatments and culture methods (Abstract). — *Phytopath.* **46**, 19, 1956.
14. OVERMAN, A. J. & BENGIS, D. S. — Fungicidal, herbicidal and nematocidal effects of fumigants applied to vegetable seed beds in sandy soil. — *Fla. State Hort. Soc. Meeting*, Nov. 1955.
15. OVERMAN, A. J. — Soil fumigation plots with squash. — *Progr. Rept. Gulf Coast Expt. Sta., Bradenton, Fla.*, 1955.
16. SHERF, A. F. & STONE, K. W. — Field control of root knot nematode in onion muck by the use of fumigants (Abstract). — *Phytopath.*, **46**, 242, 1956.
17. STOLLER, B. B., WEST, R. E. & BAILEY, J. F. — Controlling the mildew disease of the cultivates mushroom. — *Plant Dis. Reptr.* **40**, 193-199, 1956.
18. TAYLOR, G. S. — Tobacco seedbed treatments for control of weeds and soil-borne pathogens (Abstract). — *Phytopath.* **46**, 242, 1956.
19. YOUNG, R. A. — Chemical tests to control southern blight of tomato. — *Progr. Rept.* **1893**, *Texas Agr. Expt. Sta.*, 4 Oct. 1956.
20. YOUNG, R. A. — Chemical control of parasites attacking tomato roots. — *Progr. Rept.* **1848**, *Texas Agr. Expt. Sta.*, 17. Febr. 1956.
21. YOUNG, R. A. — Control of the early maturity disease of potatoes by soil treatment with Vapam. — *Plant Dis. Reptr.* **40**, 781-784, 1956.
22. ZENTMYER, G. A. — A laboratory method for testing soil fungicides with *Phytophthora cinnamomi* as test organism. — *Phytopathology* **45**, 398-404, 1955.
23. ZENTMYER, G. A. & ERSPAMER, J. L. — Vapam as a soil fumigant and as a chemotherapeutant. — *Phytopath.* **47**, 38, 1957.

(*) Die meisten der angeführten Arbeiten waren nur im Referat zugänglich.

BESTRIJDING VAN HET WORTELAALTJE *HOPLOLAIMUS UNIFORMIS* THORNE 1949 BIJ DE TEELT VAN PEEN

door

K. Kuiper & E. Drijfhout

Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen
Rijkstuinbouwconsulentschap, Leeuwarden

Inleiding

Het ectoparasitaire wortelaaltje *Hoplolaimus uniformis* is bekend als een primaire parasiet van sierteeltgewassen (2) en erwten (6) en is ook vermeld als één der veroorzakers van peenmoeheid (3).

Er zijn verschillende mogelijkheden voor de bestrijding van deze aaltjes. Door grondontsmetting is dit aaltje te doden (2) en bij sierteeltgewassen is een goedgeslaagde ontsmetting voldoende gebleken om 3 (2) en, naar later op deze proefvelden is gebleken, zelfs 4 goede gewassen te geven.

Over de invloed van vruchtwisseling is tot nu toe nog niets gemeld, evenmin als over de mogelijkheid om de teelt op ernstig besmette terreinen zoveel mogelijk te vermijden door een aan de teelt voorafgaand onderzoek van grondmonsters.

Over deze 3 mogelijkheden zijn enkele oriënterende gegevens verzameld, welke hierna worden vermeld.

Grondontsmetting

In enkele dorpen in de provincie Friesland treft men groenteteeltbedrijven aan, die besmet zijn met *Hoplolaimus uniformis*. De teelt van peen, die op deze bedrijven intensief met een beperkte vruchtwisseling wordt bedreven, ondervindt hiervan veel schade.

In deze dorpen werden sedert de herfst van 1955 grondontsmettingsproefvelden aangelegd, teneinde de mogelijkheid van chemische bestrijding van deze aantasting na te gaan. Bij een oriënterende proef werd als nematicide het reeds lang als zodanig bekende (1) en nog in de praktijk veelvuldig gebruikte formaline vergeleken met DD. Het grondtype kan worden gekarakteriseerd als humeuze zandgrond.

In oktober 1955 werd te Driesum een kleine veldproef uitgezet in 2-voud (veldjes van 2 m^2), waarin de volgende behandelingen werden uitgevoerd :

a. formaline, 500 cm^3 per m^2.
b. DD, 75 cm^3 per m^2.
c. onbehandeld.

In het voorjaar van 1956 is één serie van deze veldjes ingezaaid met peen, een andere met vroege spinazie, terwijl een derde met stamslabonen werd beplant. Na de oogst van de vroege spinazie werd deze serie veldjes ingezaaid met rode bieten. Daar echter alleen aan het gewas peen symptomen zichtbaar werden, wordt slechts over de resultaten met dit gewas gesproken.

Over de toediening van de middelen het volgende :

Door spitten was de grond vooraf losgemaakt. De DD is d.m.v. een handinjecteur op 15 cm diepte in de grond gebracht. De formaline (40%) 1 op 5 verdund en met een gieter over de grond verdeeld. Na afloop van de behandelingen is een waterzegel gegeven.

Vóór de toepassing van de behandelingen, vóór het zaaien en na de oogst zijn grondmonsters genomen ter bepaling van de aaltjespopulatie.

Bij de oogst van de peen is in het midden van ieder veldje een halve m^2 afgezet. De hiervan geoogste peen is gesorteerd in de maten : kleiner dan 5 cm; 5-10 cm en groter dan 10 cm. Van deze rubrieken zijn de aantallen penen geteld, terwijl deze aantallen per rubriek afzonderlijk zijn gewogen. Bovendien is het totale gewicht van de peen zonder loof per veldje bepaald.

Na oogst en bemonstering is opnieuw peen ingezaaid. Dit tweede gewas is met standcijfers gewaardeerd maar niet nader geanalyseerd.

In het daarop volgende voorjaar, dus na twee gewassen peen en na de winter, zijn opnieuw grondmonsters genomen om een indruk te krijgen over de nawerking van de middelen. Tabel 1 geeft een overzicht van het verloop van de *Hoplolaimus*-populatie in de grond.

TABEL 1

Verloop van de *Hoplolaimus*-populatie bij de grondontsmettingsproef 1955/'56 Driesum

Aantallen aaltjes van de soort *H. uniformis* per 100 cm^3 grond als gemiddelde van twee veldjes

Behandeling : 11/10/'55. Gezaaid : 28/3/'56 (1^e gewas) en 1/8/'56 (2^e gewas)

Object	Bemonstering op 11/10/'55 voor de behandeling	Bemonstering op 28/3/'56 na de behandeling en na de winter	Bemonstering op 1/8/'56 na de oogst	Bemonstering op 22/2/'57 na het 2^e gewas en na de 2^e winter
a. formal. 500 cm^3/m^2	525	18	38	35
b. DD 75 cm^3/m^2		0	0	5
c. onbehandeld		290	883	763

Uit deze tabel blijkt dat : de beide gebruikte middelen een goede bestrijding hebben gegeven en tegen *Hoplolaimus uniformis* een lange nawerking bezitten; in de gebruikte concentraties DD een iets betere werking had waardoor tevens een iets betere nawerking verkregen is.

In tabel 2 worden de verkregen gegevens omtrent opbrengst en sortering samengevat.

TABEL 2

Opbrengst en sortering van het gewas peen bij grondontsmettingsproef 1955/'56 Driesum

Behandeling 11/10/'55. Zaaidatum 28/3/'56. Oogst 31/7/'56

Object	Opbrengst van penen in kg/m²	Aantal penen per m² in de sorteringen				Gewichten van de sorteringen per m² in % van totaal		
		< 5 cm	5-10 cm	> 10 cm	totaal	<5 cm	5-10 cm	>10 cm
a. formal.	6.0	226	208	96	530	15	43	42
b. DD	6.8	240	234	112	586	15	38	47
c. onbeh.	4.4	382	161	39	582	34	46	20

Uit deze cijfers blijkt, dat de opbrengsten bij de objecten *a* en *b* vrijwel gelijk zijn en dat behandelingen een opbrengstverhoging t.o.v. onbehandeld hebben gegeven van ongeveer 50%.

Afb. 1. — De invloed van grondontsmetting op de ontwikkeling van peen op grond besmet met *H. uniformis*.
Links onbehandeld, rechts behandeld.

Uit de oogstanalyse blijkt, dat object onbehandeld het grootste aantal kleine penen (< 5 cm) had, terwijl het aantal grote zeer gering was t.o.v. de beide behandelingen. Uit de gewichtsanalyse blijkt een zelfde verschuiving in de richting van de kleine maten. Het belangrijkste gevolg van de aaltjesaantasting is dus het klein blijven van de peen, waardoor de opbrengst sterk daalt en de kwaliteit slechter wordt. De bovengrondse symptomen hierbij zijn het kort blijven en geel verkleuren van het loof. De kwaliteit van de peen wordt ook nadelig beinvloed door insnoeringen, welke zich soms bij aangetaste peen voordoen, en door het ,,behaarde'' uiterlijk van de peen, als gevolg van een sterke toename van het aantal zijwortels, en tevens door het in sterkere mate optreden van vertakte penen (afb. 1).

In tabel 2 zijn tevens de totale aantallen penen genoemd. Hieruit blijkt, dat de behandelingen geen noemenwaardige invloed op het kiemingspercentage hebben gehad en dus geen phytocide werking hebben uitgeoefend. De verschuiving naar de grotere maten bij de beide behandelde objecten is dus niet te wijten aan een dunnere stand.

Over de standbeoordeling van het 2e gewas peen kan het volgende worden gezegd : Onbehandeld was ook nu weer uitgesproken slecht, DD goed, terwijl formaline daar tussen in stond. De met formaline behandelde veldjes waren bij het tweede gewas relatief slechter dan bij het eerste, hetgeen in overeenstemming is met de geringere ,,nawerking'' van de behandeling ten opzichte van de aaltjes.

Grondontsmetting met nematiciden blijkt dus tegen deze peenziekte goede perspectieven te bieden. De in deze oriënterende proef verkregen gegevens zijn door het voortgezette onderzoek bevestigd, maar hierop zal elders worden teruggekomen.

Vruchtwisseling

H. uniformis is zeer polyfaag. Het aaltje is verkregen van de wortels van vrijwel alle getoetste gewassen, zij het bij vele gewassen in kleine aantallen. De tot nu toe verzamelde gegevens bieden niet voldoende houvast betreffende de gevoeligheid en het aaltjesvermeerderend vermogen van de gewassen.

Door Oostenbrink c.s. (5) is er reeds op gewezen, dat de samenstelling van de aaltjes populatie in de grond onder invloed van verschillende gewassen in sterke mate verandert en dat hierdoor bepaalde gunstige vruchtwisselingseffecten kunnen worden verkregen (4). Ook ten aanzien van *Hoplolaimus* kunnen dergelijke veranderingen worden bereikt, zoals tabel 3 aantoont.

TABEL 3

De invloed van de teelt van enkele gewassen op de besmettingsgraad van de grond met *H. uniformis*

Gemiddeld aantal aaltjes per 100 cm³ grond

Bemonstering na het betreffende gewas

Gewas	Aantal Hoplolaimus
Peen	493
Biet	546
Aardappel	234
F-waarde	21,4**
L.S.D.bij 99%........	144

** = verschillen significant bij 99%-punt.

Uit een vergelijking van de invloed, die de teelt van deze gewassen op de besmetting van de grond met *Hoplolaimus* heeft gehad, blijkt, dat na aardappelen de besmettingsgraad significant lager is dan na peen en bieten.

Dit werd bevestigd op een ander proefveld te Driesum, waar naast H. uniformis zeer weinig andere plantenaaltjes voorkwamen (per 100 cc grond 455 *H. uniformis* + 25 *Tylenchorhynchus spp* + 790 saprofage nematoden). Ook hier was de populatie van *H. uniformis* na een teelt van aardappelen lager dan van peen en bieten (437 tegenover 555 en 708 ex. per 100 cm³ grond), terwijl de opbrengst en kwaliteit van een volgend gewas peen na aardappelen duidelijk beter waren (zie afb. 2).

Afb. 2. — De invloed van de voorvrucht op de ontwikkeling van peen op grond besmet met *H. uniformis*.
Van links naar rechts, peen na : aardappelen, bieten, peen.
Opbrengst per rij van 6 m : 1,6 kg, 1,0 kg, 0,9 kg.

Een en ander geeft dus aanwijzingen dat ook door vruchtwisseling resultaten zijn te bereiken ter bestrijding van de schade door *H. uniformis* bij peen.

Perceelskeuze aan de hand van grondonderzoek

Slechte groei in peen (peenmoeheid) blijkt in Nederland zeer algemeen een gevolg te zijn van de aanwezigheid van parasitaire wortelaaltjes in de grond. Dit kunnen verschillende soorten zijn, die soms gemengd voorkomen.

In bepaalde streken blijkt *H. uniformis* de hoofdrol te spelen, waarbij de besmettingsgraad van de percelen zeer sterk kan uiteen lopen.

Door, van de beschikbare percelen grondmonsters te laten onderzoeken, kan men aan de hand van de aaltjes-analyses de minst besmette percelen uitzoeken en daardoor schade voorkomen.

TABEL 3

Overzicht van de besmettingsgraad met *H. uniformis* van percelen op enkele bedrijven met een intensieve peenteelt. Besmettingsgraad uitgedrukt in gemiddeld aantal aaltjes per 100 cm³ grond

H. = Hoplolaimus **O. = overige Tylenchida**
P. = Pratylenchus **S. = saprofage nematoden**

Bedrijf	Perceel	H	P	O	S
A	1	1175	—	225	2275
	2	75	10	30	1705
	3	525	—	15	1425
B	1	—	—	75	2073
	2	885	—	23	705
C	1	195	5	40	3145
	2	1485	10	155	2080

Er zijn in de praktijk met dit soort onderzoek reeds goede ervaringen opgedaan. Door het Bedrijfslaboratorium voor Grond en Gewasonderzoek is, in samenwerking met de Plantenziektenkundige dienst, voor de praktijk de mogelijkheid geopend om op grotere schaal dan tot nu toe, grondmonsters voor dit onderzoek in te zenden.

SAMENVATTING

Het ectoparasitaire wortelaaltje *Hoplolaimus uniformis* is bekend als een van de veroorzakers van „peenmoeheid". Over de bestrijding van de schade zijn nog geen berichten verschenen. Grondontsmetting met DD en met formaline bleken meer dan 90% van de aaltjes te doden en de groei en qualiteit van de peen sterk te verbeteren. Ook door vruchtwisseling bleek de opbrengst te beinvloeden. Na aardappelen bleek een betere opbrengst te worden verkregen dan na bieten en peen, in negatieve correlatie met de populatiehoogten van dit aaltje. Ook het vermijden van zwaar besmette percelen aan de hand van grondmonsteronderzoek blijkt van practische betekenis.

SUMMARY

Control of the root infesting nematode *Hoplolaimus uniformis* Thorne 1949 in carrots

The ectoparasitic root infesting nematode *Hoplolaimus uniformis* is known as one of the causative agents of „carrot sickness". No records on control or prevention of the damage are available. Soil disinfection with DD and with formalin appeared to kill more than 90% of the nematodes and improved the growth of the carrots markedly. Crop rotation also influenced the crop yield. Potatoes as a preceding crop yielded a better crop than beet or carrots, in negative correlation with the population density of the nematode. Avoiding heavily infested plots with the help of soil sample examinations also proved to be of practical importance.

LITERATUUR

1. FUCHS, W. H. Bodenentseuchung. *Handbuch der Pflanzenkrankheiten* VI/1 (1952) : 144-333. Paul Pagey, Berlijn en Hamburg.
2. OOSTENBRINK, M. & BESEMER, A. F. H. Parasitaire aaltjes als een oorzaak van „wortelrot" in de snijbloemencultuur en hun bestrijding met grondontsmettingsmiddelen. *Mededelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent* 28 (1953) : 335-349.
3. OOSTENBRINK, M. — Over de betekenis van vrijlevende wortelaaltjes in land- en tuinbouw. *Verslagen en Mededelingen van de Plantenziektenkundige Dienst* no. 124 (1954) : 196-233.
4. OOSTENBRINK, M. — Over de invloed van verschillende gewassen op de vermeerdering van en de schade door Pratylenchus pratensis en Pratylenchus penetrans (Vermes, Nematoda). *Tijdschrift over Plantenziekten* 62 (1956) : 189-203.
5. OOSTENBRINK, M., S'JACOB, J. J. & KUIPER, K. — An interpretation of some crop rotation experiences based on nematode surveys and population studies. *Nematologica* 1 (1956) : 202-215.
6. SEINHORST, J. W. — Een ziekte in erwten, veroorzaakt door het aaltje Hoplolaimus uniformis Thorne. *Tijdschrift over Plantenziekten* 60 (1954) : 261-264.

Prof. Dr. J. H. Schuurmans Stekhoven

V : Is het niet mogelijk om formaline in plaats van DD te gebruiken voor ontsmetting van grond die met Hoplolaimus besmet is?

A : Door de telers wordt formaline reeds gebruikt, ook tegen aaltjesplagen. Er zijn echter vrij hoge doses nodig om een goed resultaat te verkrijgen en dan is formaline duurder dan DD. Dit geldt te meer daar de aaltjesdoding als regel minder is en de behandeling dus na een kortere tijd herhaald moet worden. Voordeel van formaline ten opzichte van DD is dat de teler dit middel zelf in de grond kan brengen en het kan toepassen buiten het groeiseizoen.

SUR L'EFFICACITE LARVICIDE DE DIFFERENTS ESTERS PHOSPHORIQUES EN SOLUTION DANS L'HUILE VIS A VIS DU CARPOCAPSE DE LA PRUNE (*LASPEYRESIA FUNEBRANA* TREIT)

par

F. Chaboussou

Directeur de la Station de Zoologie agricole du Sud-Ouest (Pont de la Maye — Gironde FRANCE)
(Institut National de la Recherche agronomique)

I. Travaux antérieurs

Dans cette communication, il sera uniquement question de la lutte contre la deuxième génération de chenilles du Carpocapse de la Prune (*Laspeyresia funebrana* Treit). Or, diverses méthodes de lutte ont successivement été recommandées : comme vis à vis des autres insectes, le mode et le nombre des traitements sont en effet fonction du mode d'action et de l'efficacité du produit que l'on a choisi.

Avec la *nicotine* employée comme ovicide, Bovey (3) préconisait jusqu'à 3 interventions, à 8-10 jours d'intervalle, au cours de la période de ponte. Cependant malgré le nombre élevé de traitements, cette technique s'est fréquemment avérée décevante (10 — 12).

En vue de la destruction des larves néonates avant leur pénétration dans le fruit, Bohm avec le *zeidane* (2) et Fisher au moyen du *parathion* (10) conseillaient deux pulvérisations espacées de 15 jours environ. Selon Fisher, le premier traitement devait être placé dès l'observation des premiers œufs pondus, ou, d'après Bohm, 7 jours après l'émergence des premiers papillons d'été — ce qui revenait sensiblement au même.

Au moyen de cette technique, Fisher a obtenu des résultats satisfaisants : 7% de fruits attaqués chez les arbres ayant reçu deux traitements au parathion à 20 g produit actif à l'hl, contre 81% chez les témoins. Cependant, nous nous sommes demandé s'il ne serait pas possible de réduire encore les traitements et de protéger la Prune d'Ente au moyen d'une seule intervention. Nous basant sur les excellents résultats obtenus avec l'*oléoparathion*, tant contre les Cochenilles (6) que vis-à-vis de la Tordeuse du Pêcher, en particulier pour la protection des poires (8-9-12), nous avons pensé que ce produit pourrait peut-être utilisé avec succès dans la lutte contre le Carpocapse de la Prune.

Effectivement, au cours des essais conduits en 1954, et dans lesquels étaient entrés en comparaison : *oléoparathion*, *parathion poudre mouillable*, *diazinon*, *zeidane* et *nicotine*, c'est le premier de ces produits qui avait donné les meilleurs résultats (12). Cette année-là, toutefois, les attaques avaient été relativement bénignes. Si elles s'étaient montrées plus graves, il est vraisemblable que cet unique traitement effectué à titre préventif dès les premières éclosions, n'aurait pas été suffisant pour protéger la récolte.

Par contre, nos essais de 1955 nous ont permis d'étudier l'efficacité de *l'oléoparathion* en traitement larvicide curatif, l'intervention ayant été placée à une époque où 95% des œufs étaient déjà éclos. Comparé au *parathion poudre mouillable* (22 g 5/hl), au *zeidane émulsion* (100 g zeidane = DDT/hl), au malathion émulsion (100 g malathion/hl), l'*oléoparathion* essayé sous la forme d'une huile à 3%, employée à 0,75% soit 22,5 g parathion/hl, a donné les meilleurs et les plus constants résultats, avec une efficacité de plus de 90 (5).

N.B. — Les chiffres entre parenthèses renvoient à la bibliographie.

En 1956, nous nous sommes proposé de confirmer ces résultats en comparant sous la même forme huileuse, différents esters phosphoriques : *parathion*, *diazinon* et *malathion*.

II. Expérimentation de 1956

Comme les années précédentes, les observations et les essais relatifs au Carpocapse de la Prune ont été conduites sur Prune d'Ente, dans la vallée du Lot : à Sainte Livrade (Lot-et-Garonne) (1)

Les observations sur le *cycle évolutif de la deuxième génération* ont été entreprises au début du mois de juillet. Dès le 7 juillet, on constatait la présence dans les fruits de chenilles du deuxième âge, ce qui faisait donc remonter les premières éclosions dans les derniers jours du mois de juin. Le 10 juillet : 70% des éclosions étaient opérées, le 16 juillet : 85%, le 18 juillet : 94%.

Par ailleurs, de 14% le 6 juillet, le pourcentage des fruits présentant des pontes, passait à 20% le 10 juillet, et plafonnait à 21% le 16 juillet. Cette date marquait donc la fin du dépôt des œufs, les éclosions étant pratiquement terminées le 20 juillet.

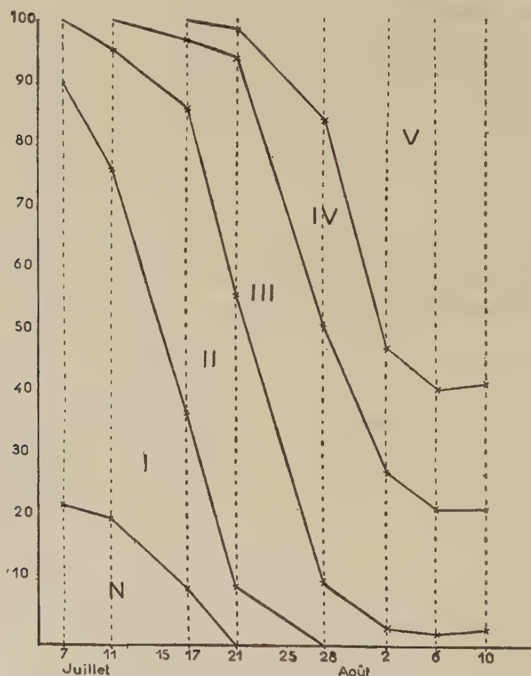


Fig. 1. — Evolution de la population larvaire de *Laspeyresia funebrana* à St Etienne de Fougères (Lot-et-Garonne) 1956.
N = larves néonates.
I II III IV V = les 5 stades larvaires.

---

(1) Nous sommes heureux de rendre hommage ici à notre collaboratrice Mlle G. Moutous, qui avec compétence et une remarquable opiniâtreté, a conduit, seule et avec des moyens réduits, les observations et les essais qui font la matière de cette communication.

Parallèlement, l'évolution larvaire était étudiée par dissection systématique d'un certain nombre de fruits. 1.153 prunes, ainsi prélevées sur les arbres à des intervalles de 4 à 6 jours, entre le 7 juillet et le 11 août, ont permis de retrouver 1.232 chenilles. On a pu ainsi constater que si l'évolution du Carpocapse s'est montrée identique dans des vergers appartenant à un même biotope (plaine du Lot), elle s'est montrée par contre, assez différente selon qu'il s'agissait des vergers de la vallée ou de ceux des côteaux.

La figure 1 donne le détail de l'évolution des chenilles dans un des vergers de la vallée du Lot. On peut y voir notamment les dates d'apparition des différents stades larvaires, faits biologiques ayant une grande importance pour la fixation de l'époque des traitements, comme nous le verrons plus bas.

Les *pulvérisations* ont été conduites au moyen de motopulvérisateurs donnant 10 à 12 kg de pression. Quatre vergers ont été ainsi traités par nos soins, les 11, 12 et 14 juillet, soit à une époque correspondant à 75-80% des éclosions. A ce moment là, n'étaient guère présentes dans les fruits que les chenilles néonates, du 1er, du 2e et du 3e âge.

Un cinquième verger (SABATIE) a été traité par la praticien lui-même, le 24 juillet, soit avec un certain retard, et à une époque où la proportion des larves du 4e âge était de 6%.

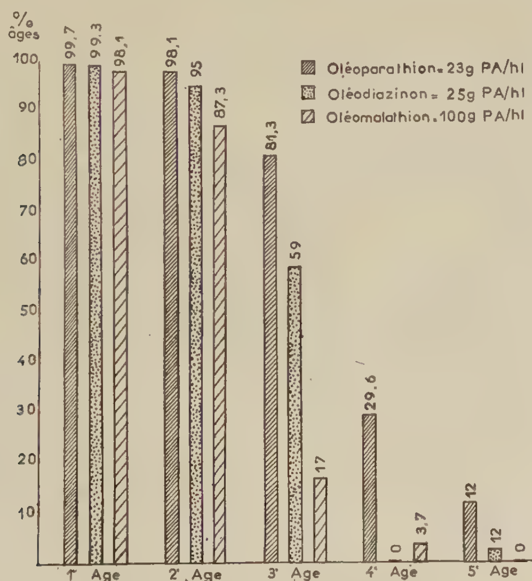


Fig. 2. — Mortalités des différents âges larvaires, données par les trois produits.

Le tableau I ci-contre donne, avec la nature des spécialités et les doses de principe actif utilisées, le détail des résultats obtenus

TABLEAU I

Résultats des essais de traitements larvicides contre le Carpocapse de la Prune
(*Laspeyresia funebrana* Treit)

Produits	produits actifs et doses pour 1 hl de boullie	Vergers	Chenilles 1er âge Vivantes	Chenilles 1er âge mortes	Chenilles 2e âge Vivantes	Chenilles 2e âge mortes	Chenilles 3e âge Vivantes	Chenilles 3e âge mortes	Chenilles 4e âge Vivantes	Chenilles 4e âge mortes	Chenilles 5e âge Vivantes	Chenilles 5e âge mortes
Oléoparathion	parathion	Cont. espal. Escudie I	0	148	0	57	1	17	2	0	5	0
3% parathion =	22,5 g	Cont. espal. Escudié II	2	167	2	75	8	9	2	0	14	1
70% huile	huile	Plein vent Escudié	0	90	2	66	1	8	4	0	8	0
à 0,75%	525 g	Coroller	0	191	1	109	7	15	3	0	8	2
		Sabatie	0	64	3	118	6	51	8	8	9	3
			2	660	8	425	23	100	19	8	44	6
		Mortalité	99,7		98,1		81,3		29,6		12	
Oléodiazinon		Cont. espal. Escudié I	0	127	2	73	13	7	9	0	14	1
10% diazinon =	diazinon	Cont. espal. Escudié II	1	103	2	53	13	15	9	0	11	0
70% huile	25 g	Coroller	2	145	4	73	7	11	12	0	28	0
blanche	huile	Sabatie	0	56	7	95	15	36	9	0	19	2
			3	431	15	294	48	69	39	0	72	3
à 0,25%	175 g	Mortalité	99,3		95,1		58,9		0		2,7	
Oléomalathion	malathion	Cont. espal. Escudié II	2	191	13	90	39	8	26	1	53	3
10% malath. =	100 g											
53% huile	huile 530 g	Mortalité	98,9		87,3		17		3,7		5,3	
Témoins		Cont. espal. Escudié I	0	0	11	0	64	0	89	0	82	0
		Cont. espal. Escudié II	7	0	60	0	144	0	44	1	76	0
		Plein vent Escudié	0	0	12	0	52	0	43	0	69	4
		Coroller	13	0	21	0	79	0	85	0	75	3
		Sabatié	1	0	8	0	53	0	66	0	74	0
			21	0	112	0	392	0	327	1	386	7
		Mortalité	0		0		0		0,3		1,8	

dans chacun des 5 vergers. Le contrôle d'efficacité a en effet été réalisé grâce à la dissection d'un certain nombre de fruits, les premiers prélèvements ayant eu lieu 14 jours après le traitement (sauf pour le verger SABATIE où l'on a procédé aux constatations dès 3 jours après la pulvérisation). Un total de 2.696 chenilles a pu ainsi être retrouvé, ce qui a permis d'établir pour chacun des produits, la mortalité obtenue vis à vis des différents stades larvaires (figure 2).

Vis à vis du premier âge : la mortalité donnée par les différents produits est sensiblement identique : plus de 99%.

Vis à vis des larves du second âge : *l'oléoparathion* commence déjà à montrer une certaine supériorité avec 98%, contre 95% avec *l'oléodiazinon*, et 87% pour *l'oléomalathion*.

Vis à vis des chenilles du 3e âge, les différences s'accentuent : alors que *l'oléoparathion* donne encore 81% de mortalité, *l'oléodiazinon* ne présente plus que 59%, et l'oléomalathion 17% seulement.

Contre les chenilles du 4e âge, la mortalité donnée par *l'oléoparathion* n'est plus guère que de 30%, tandis qu'elle est pratiquement nulle avec les deux autres produits.

Quant aux chenilles du 5e âge — plus profondément enfoncées dans le fruit, elles sont invulnérables. Celles que l'on retrouve mortes ont été, en fait, engluées par la réaction gommeuse du fruit.

Ces résultats confirment ceux déjà obtenus vis à vis de *L. funebrana* par Schumann (14) avec le *parathion simple*. Ils sont aussi à rapprocher de ceux obtenus par Azevedo contre le 3e stade larvaire de *Dacus olae* et qui avaient mis en relief la supériorité du *parathion*, ainsi que le manque d'efficacité total du *malathion* (1).

Comme nous le rappelions dans une publication antérieure (5) nos recherches faisant ressortir *l'action en profondeur du parathion*, sont à rapprocher de celles conduites non seulement vis à vis de *L. funebrana*, mais aussi du Carpocapse de la Pomme (8-9-15), et de la Tordeuse du Pêcher (13). Elles confirment aussi les excellents résultats obtenus contre les asticots de la Mouche de l'Olive, aussi bien en Italie qu'en Grèce (8) et au Portugal (1).

Toutefois, si la rétention du parathion par l'huile d'olive peut être un inconvénient sérieux, nous devons faire remarquer qu'il est loin d'en être de même pour la Prune. Selon différents chercheurs en effet, comme Simone Dormal (7) et Schumann (14), au bout d'un délai maximum de 8 jours après le traitement, les résidus de parathion en surface ou dans la pulpe sont si faibles qu'ils ne présentent absolument aucun danger pour le consommateur.

III. Conclusions.

De l'ensemble de nos résultats de 1955 et 1956, nous pouvons donc conclure qu'*en traitement curatif contre les chenilles de 2e génération*, une seule pulvérisation effectuée au moyen d'un *oléoparathion* à 23 g PA/hl, permet d'obtenir vis à vis du Carpocapse de la Prune une efficacité globale de 92-93%. Cette efficacité n'a été que de 82 environ avec *l'oléodiazinon* à 25 g PA/hl, et de 68 avec *l'oléomalathion* à 100 g PA/hl.

L'époque optimum du traitement se place juste avant l'apparition du 4e stade larvaire. Elle correspond à celle où l'on enregistre 75 à 80% des éclosions des œufs. Pratiquement, on peut traiter avec une bonne efficacité pendant une huitaine de jours (en général au cours de la première quinzaine de juillet en Agenais). Vis à vis de la Prune d'Ente, ce traitement se plaçant 4 à 5 semaines avant maturité, ne présente absolument aucun danger pour le consommateur. Par ailleurs, les prunes étant destinées au séchage, les dégâts superficiels qui peuvent éventuellement subsister après le traitement, curatif, disparaissent complètement après cuisson.

BIBLIOGRAPHIE

1. AZEVEDO (A. R. de). — Ensaio comparativo da accao do parathion, diazinon, et do malathion contra as larvas do *Dacus olae*. *Agron. Lusit*, t. 18, 75-82, 1956.
2. BOHM (H.). — Untersuchungen über Biologie und Bekämpfung des Pflaumenwicklers. *Pflanzenschutzberichte*, Vienne 1949, 1-2, 1-15.
3. BOVEY (R.). — Recherches sur le Carpocapse des Prunes (*Laspeyresia funebrana* TREIT). *Rev. Pathol. Vég.* Paris 1937, t. 24, 189-317.
4. CHABOUSSOU (F.) et BRUNETEAU (J.). — Le Carpocapse de la Prune. Etat actuel de la question. *Rev. Zool. Agr.* 1954, nº 7-9, 85-90.
5. CHABOUSSOU (F.) et Mlle MOUTOUS (G.). — Sur l'action larvicide de différents produits vis à vis du Carpocapse de la Prune (*Laspeyresia funebrana* TREIT). *Rev. Zool. agr.* 1955, nº 10-12, 101-110.
6. CHABOUSSOU (F.) et RAMADIER (P.). — Sur l'efficacité comparée de différents types d'huiles minérales employées en traitement d'hiver contre la Cochenille rouge du Poirier (*Epidiaspis leperii* SIGN). *C. R. IIIé Congrès international de Phytopharmacie*, Paris 1952, 257-262.
7. DORMAL (S.). — Le problème des traces d'insecticides dans les fruits et les légumes, (1er addenda). *Parasitica* 1955, t. 11, p. 58.
8. DUSSEL (J.). — Essais du parathion dans la lutte contre le Carpocapse des Pommes et des Poires. *Rev. Zool. Agr.* 1954, nº 1-3, pp. 37-42.
9. DUSSEL (J.). — Essais de traitements par nébuslisation insecticide dans la lutte contre le Carpocapse des Pommes et des Poires. *Rev. Zool. Agr.* 1955, nº 1-3, pp. 23-24.
10. FISHER (H.). — Zur Biologie und Bekampfung des Pflaumenwicklers (*Laspeyresia funebrana* Tr.) in Norddeutschland. *Anz. Schadlingsk.* Berlin 1948, 21, pt 3, 40-43.
11. PITANZA (M.). — Lutte antidacique effectuée avec l'emploi de parathion et résidus de ce dernier dans l'huile. *Feuille d'informations oléicoles internationales.* Janvier-mars 1955.

12. ROEHRICH (R.) et RAMADIER (P.). — La lutte chimique contre le Carpocapse des Prunes (*Laspeyresia funebrana* Tr.). Premiers résultats des essais entrepris en Lot-et-Garonne. *Rev. Zool. Agr.* 1955, n° 4-6, pp. 65-68.
13. ROEHRICH (R.), HATT (J. M.) et MOUTOUS Mll (G.). — La lutte chimique contre le Carpocapse et la Tordeuse du Pêcher. Résultats obtenus en 1951 dans le Sud-Ouest. *Rev. Zool. Agr.* 1952, n° 4-6, pp. 25-29.
14. SCHUMANN (Dr C.). — Action des esters phosphoriques sur *Laspeyresia funebrana* Tr. *Hofchen Briefe* 1953, n° 5, pp. 262-275.
15. SOENEN (A.) et VANWETSWINCKEL (C.). — Essais de lutte effectués en 1952 contre le Carpocapse (*Laspeyresia pomonella* L.). *Hofchen Briefe* 1953, n° 3.

J. De Wilde, Wageningen

V : Demande si la date du traitement n'interfère pas avec la période de récolte ce qui donne un danger pour le consommateur.

A : Non. Le traitement contre la 2é génération des larves de *Laspeyresia funebrana* se place dans la première quinzaine du mois de juillet en Agenais, alors que la récolte débute vers la mi Août, c'est à dire 4 à 5 semaines plus tard. Donc : Aucun danger pour le consommateur de pruneaux.

L. Detroux, Gembloux

V : Je désire connaître la teneur en matière active et huile des produits utilisés?

A : 1. **Oléoparathion** à 3% — utilisé à 0,75% :
z parathion : 22,5 g
z huile : 525 g

2. **Oléodiazinon** à 10% de diazine : à 0,25%
z diazinon : 25 g
z huile 175 g

3. **Oléomalathion** à 10% de malathion : 53%
z malathion : 100 g
z huile : 530 g

ONDERZOEK OVER DE ADEMHALINGSBEWEGINGEN VAN KAKKERLAKKEN EN SPRINKHANEN EN HAAR BEINVLOEDING DOOR INSECTICIDEN

door

J. H. Schuurmans Stekhoven

mede namens

C.G. de Bruin, J. van Ingen, R. M. Soelistio en H. J. Thorbecke

Biol. Lab. Noury & van der Lande, Deventer (Holland)

1. Inleiding

In zijn dissertatie 1926 legt Hazelhoff bijzondere nadruk op het feit, dat de klepjes der stigmata bij rustig liggende insecten en spinnen voortdurend **bijna** geheel gesloten zijn, hetgeen uiteraard, zoals de auteur terecht opmerkt, een continu doorgaande diffusie geenszins uitsluit. Hazelhoff verrichtte zijn meeste waarnemingen in een gesloten systeem, dat in een waterbad op temperatuur werd gehouden, waarbij gezorgd was voor een continuë doorvoer van lucht, waaraan naar wens bepaalde concentraties van CO_2 konden worden toegevoegd. De meeste waarnemingen werden bij een temperatuur van 28°C verricht. Bij proeven met lagere (12°, 17°, 22°C) en hogere (33°C) temperaturen bleek, dat de gemiddelde openingswijdte der stigmata des te groter is, naarmate de temperatuur hoger is.

De stigmaklepbewegingen werden waargenomen met een Zeiss' binoculaire loupe met een vergroting van 10, 20 of 30 malen. Hazelhoff concentreerde zijn belangstelling in hoofdzaak op de regeling der klepbewegingen onder invloed van CO_2 en dank zij zijn onderzoek weten wij thans dat de perifere regeling der klepbewegingen onder invloed staat van het CO_2-gehalte der lucht, resp. ademhalingsgassen in het inwendige van het dier.

Hazelhoff legde zijn waarnemingen wel in protocollen vast, maar registreerde de stigmabewegingen niet met behulp van het kymographion. Voor zover ons bekend, werd Hazelhoff's methode van waarneming sindsdien niet meer toegepast. Wel werd in de latere tijd, vooral sinds de invoering van de nieuwere

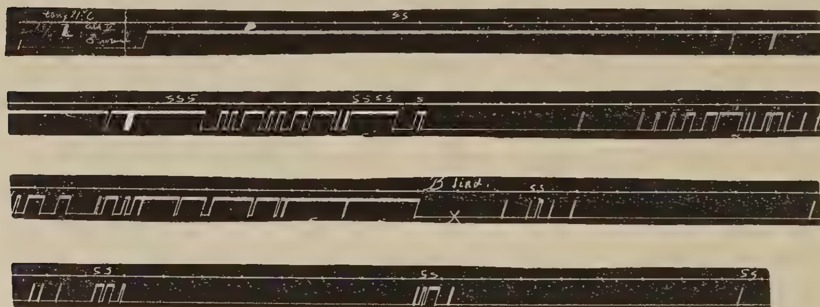
insecticiden, DDT en HCH, door D r e s d e n en zijn medewerkers en door B o t fundamenteel onderzoek verricht over de invloed der insecticiden op de physiologie der insecten.

Zo stelde D r e s d e n vast, dat de DDT-symptomen, bestudeerd aan kikkers en kakkerlakken berusten op een facilitatie in het centrale zenuwstelsel, terwijl het waarschijnlijk gemaakt kon worden, dat de werking op motorische eindplaten bij Periplaneta in principe overeenkomt met de werking op de synapsen.

Het leek interessant om, uitgaande van de methode Hazelhoff, de bestudering van de stigmabewegingen, na te gaan hoe deze apparaten reageren wanneer insecten behandeld worden met insecticiden. Als insecticiden werden gekozen : lindaan, de overige isomeren van Hexachloorcyclochexaan, waarop wij op deze plaats niet verder zullen ingaan, dieldrin en aldrin.

Als insecten gebruikten wij voor dit onderzoek : de Amerikaanse kakkerlak *Periplaneta americana L.* en 2 sprinkhaansoorten *Schistocera gregaria* Forsk en *Locusta migratoria L.*

De proefdieren werden na kortdurende narcose met CO_2 met behulp van sellotape vastgebonden op een gewoon objectglas, dat met behulp van plastiline zodanig op de objecttafel van een Leitz prepareermicroscoop werd bevestigd, dat zich de bewegingen van de kleppen van het eerste thoracale stigma goed lieten waarnemen. Gezorgd werd voor een goede belichting van de proefdieren.



Afb. 1

P. a. 5. ♂, eerste deel onbehandeld. Ademhalingsrhythme T.21° C. 25.9.56
bij B.x lind. toepassing Lindaan; s.s. spartelen.

De waarnemingen werden met behulp van een contactsleutel overgebracht op beroet kymographionpapier. De omlooptijd van het kymographion bedraagt ca. ½ uur. De stroom van de contactsleutel werd gesloten, wanneer de opening dicht ging (afb. 1); onderbreking van de stroom vond plaats als de opening meer of minder wijd openging. Als criterium *dicht zijn* gold, dat de randen van de stigmaklep aangesloten liggen tegen de lichaamswand.

Wanneer wij nog door de stigmaopening naar binnen konden kijken, ook al moest daartoe het objectglas iets schuin worden gezet, werd gerekend dat de stigmaklep open was.

De insecticiden werden opgelost in aceton aangebracht op de plaatsen die volgens B o t als het meest gevoelig moeten worden beschouwd, b.v. op de kop in de streek van de inplanting van de antennen, of ook wel op de buikzijde.

Bij de proeven met dieldrin werd een lapje geimpregneerd met, of een gaasje gedoopt in dieldrin op het lichaam bevestigd door middel van sellotape. Van elk dier werden allereerst een of meer registraties verricht onder normale omstandigheden, waarna pas de behandeling werd toegepast en de optredende veranderingen in de stigmaklepbewegingen gedurende korter of langere tijd werden gevolgd. De temperatuur waaronder de proeven werden uitgevoerd, werd opgetekend. Verschillende dieren werden met onderbrekingen gedurende een etmaal of langer geobserveerd. Opgetekend werd steeds of het dier spartelende bewegingen maakte.

2. Waarnemingen verricht aan normale kakkerlakken en sprinkhanen

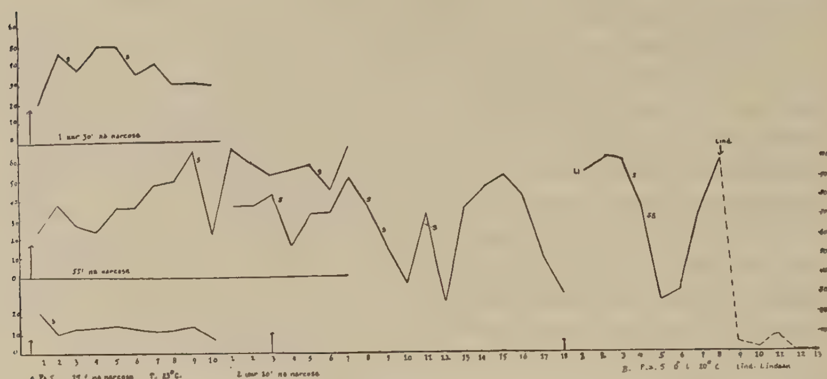
a. *Kakkerlakken*

Na normale kakkerlakken korten tijd te hebben blootgesteld aan een koolzuurnarcose en de dieren op de bovenbeschreven wijze te hebben vast gebonden, wachtten wij aanvankelijk gewoonlijk minstens één minuut of 10, maar later ook wel een uur tot in totaal 3 uur, voordat wij met onze registraties begonnen.

Overzien wij al onze waarnemingen die betrekking hebben op in totaal 24 dieren, waarvan 4 wijfjes en 20 mannetjes, welke laatste gevoeliger zijn, dan blijkt dat wij een zeer bont beeld krijgen. De temperaturen waarbij waargenomen werd schommelden tussen 19° en 24°C. Gedurende een waarnemingsdag bedroeg de schommeling nooit meer dan hoogstens 2°C. Deze verschillen tussen hoogste en laagste temperatuur hebben dan ook betrekking op het hele waarnemingsmateriaal.

Wanneer wij nu de gegevens van de percentages van de gesummeerde tijden van dicht zijn, berekend over de hele tijd die telkens waargenomen werd, vergelijken, blijkt dat deze cijfers uitermate uiteenlopen. Aan de ene zijde van de reeks krijgen wij dan een dier, waarbij de waarneming aanvangt 22' na narcotisering bij een temperatuur van 22°C, waarvan de klep van het stigma bij 2 achtereenvolgende waarnemingstijden resp. 93,1 en 95,7% gesloten bleef, terwijl aan de andere kant van de reeks een dier geplaatst kan worden, onderzocht bij 21°C en wel 1 u 10' na narcotisering, waarbij het % gesloten zijn zich beperkte tot 1,8% van de hele waarnemingsperiode. Dieren, waarbij de ademhalings-

openingen onder normale omstandigheden zo lang gesloten bleven als in het eerste geval, zijn hoge uitzondering. Enkele dieren werden meerdere malen achtereen onderzocht. Zo b.v. 1 mannetje, waarvan resp. 15', 55', 1 u 30' en 2 u 10' na het narcotiseren, bij 23°C, de stigmabewegingen werden geregistreerd (afb. 2). De % bedroe-



Afb. 2

Waarnemingen aan Periplaneta americano 5. Temp. 23°. Percentages van gesloten zijn.

gen 13; 50,6; 42,7 en 65,9%. Wanneer wij nu aannemen, dat het eerste in verhouding tot de overige nogal lage percentages nog onder invloed van de voorafgaande narcose heeft gestaan, dan blijkt toch uit de andere cijfers, dat bij dit dier de waarden om een zeker gemiddelde schommelen.

Van minuut tot minuut bekeken blijkt het % van dicht zijn bij vele dieren rhythmisch te schommelen. Deze rhythmiek is zeker voor een belangrijk deel te danken aan spartelbewegingen van het dier. Maar ook als wij dit in aanmerking nemen, blijft er toch nog een zekere rhythmiek over, die ook tot uiting komt in rhythmische bewegingen der stigmakleppen. De bovenstaande curven mogen hiervan een beeld geven.

Bij bestudering van een drietal dieren, waarvan 1 bij een temperatuur van 24° gedurende 13' gevolgd werd nadat tussen het moment van narcotiseren 18' waren verlopen bleek in dit geval de bestudeerde stigmaopening het grootste deel van de waarnemingstijd open te blijven. Een ander beeld, dat overigens eerder uitzondering dan regel is, vertoonde ons dier 11♂. Op 9 jan. 1957 werden 2 waarnemingen aan dit dier geregistreerd, resp. gedurende 14' en 11' en wel 22' (1e waarneming) en 27' na de narcose (2e waarneming). Deze gegevens schijnen Hazelhoffs mening te bevestigen, dat de opening het grootste deel van de tijd dicht blijft. Bestudering van hetzelfde dier een dag later, nadat eerst weer een narcose was toegepast, gaf een duidelijke 3-toppige kromme te zien, waarbij de hoogste punten ook nu weer bij

ca 80% liggen. Maar toch kan men niet zeggen, dat de opening gedurende het grootste deel van de tijd dicht is geweest.

Afgezien van de individuele verschillen, die groot zijn, geldt hier in het algemeen, dat de stigmata bij kakkerlakken een belangrijk percentage van de tijd open staan. De voorafgaande narcose en vooral de lengte van de periode die tussen de narcose en de eerste en eventuele volgende waarnemingen liggen, schijnen in dit opzicht van weinig belang te zijn.

Vaak liggen de percentages gedurende de tweede helft van iedere waarnemingsperiode aanmerkelijk hoger dan gedurende de eerste helft, maar ook op deze regel vindt men uitzonderingen.

Bij dieren waarvan de tijden binnen 10' na de narcose werden geregistreerd (6 dieren) varieerde het % tussen 8,85 en 87,4% en dit bedroeg in 3 gevallen tussen 32,6 33,2 en 57,07%. Werd ca. 1-1½ uur na de narcotisering gewacht (9 gevallen) voor de registratie plaats vond, dan bleken de bedoelde percentages te schommelen tussen 1,8 en 79,3%. Van deze 9 dieren lagen de waarden bij 3 dieren onder de 10%, bij twee bij ca. 25%, terwijl de overige een hogere waarde te zien gaven.

Hiermee is dunkt ons voldoende duidelijk aangetoond, dat het onjuist is wanneer Hazelhoff vermeldt, dat de kakkerlak in rust zijn stigmata bijna de gehele observatietijd gesloten houdt.

In dit zelfde verband moeten wij ons ook nog enige ogenblikken bezig houden met de bewegingen van de kleppen. Hazelhoff spreekt hier van trillingen. Ons komt deze uitdrukking minder juist voor en wij zouden er de voorkeur aan geven hier van waaierbewegingen te spreken, welke soms zeer langzaam verlopen, maar in andere gevallen, vooral na spartelbewegingen, schoksgewijze met grote heftigheid worden uitgevoerd. Vlak te voren worden dan, zoals Hazelhoff zeer juist beschrijft, de stigmata stevig dichtgeknepen, waarna ze plotseling wijd open gaan onder heftige bewegingen van het klepje.

De frequentie van deze bewegingen hangt samen met het % van open en dicht zijn en wel in dien zin, dat als de opening langen tijd open staat en dus het gehele beeld een rustig verloop heeft, het aantal bewegingen dat wordt uitgevoerd, berekend per minuut lager is dan bij heftige schommelingen, zoals blijkt uit een vergelijking van de vertikale lijnen bij de krommen, links bij iedere kromme afgebeeld. Toch valt hier niet altijd een vaste regel te trekken (Afb. 2).

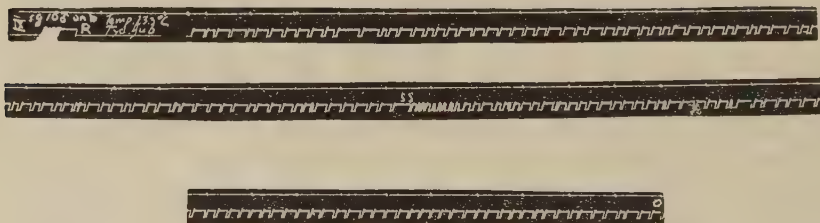
Opgemerkt moet hier worden, dat ook als de stigmaklep dicht is, dus de randen van het klepje over de donkere richel aan de proximale zijde van de opening ligt, bewegingen kunnen blijven doorgaan. Of dit iets te maken zou kunnen hebben met menging van de lucht in het stigmatale atrium is zonder meer niet uit te maken.

Verder blijkt, dat in die gevallen waar wij tot diep in de tracheeënbuizen konden kijken, hier van tijd tot tijd krampachtige samentrekkingen plaats vonden, die ons doen afvragen of hier niet een soort mechanisme bestaat voor een snellere uitwisseling van lucht dan door diffusie alleen. Wij nemen aan, dat de inwendige stigmaspieren hierbij een rol spelen.

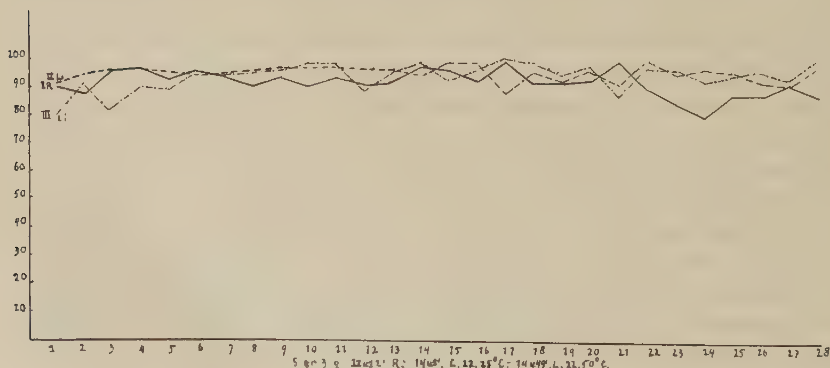
b. *Sprinkhanen*

Wij hebben met sprinkhanen, zowel aan de treksprinkhaan, *Schistocera gregaria*, als aan *Locusta migratoria* tal van waarnemingen gedaan, vooral met betrekking tot normale dieren. Hier is het beeld heel anders dan bij *Periplaneta americana*.

Onderzocht werden van *Schistocera gregaria* 6 mannetjes en 5 wijfjes, totaal 11 dieren; van *Locusta migratoria* in totaal 3 dieren. Daar bij Locusta het algemene beeld der onbehandelde dieren in grote trekken gelijk is aan dat van Schistocera, zullen wij ons hier beperken tot een bespreking der waarnemingen bij Schistocerca gregaria. Bij Schistocerca ligt nu inderdaad het % van dicht blijven bijna steeds tussen 70 en 95 of nog hoger, terwijl het aantal bewegingen dat per minuut wordt gemaakt gemiddeld hoger ligt dan bij Periplaneta. Wanneer het klepje open gaat, blijft het gewoonlijk maar zeer kort open (Afb. 3, 4). Blijkbaar hangt dit ten



Afb. 3
Sch. gregaria 10 ♂ onbeh. Ademhalingsrhythme T.23.3° C. 9u6' R. Stigma s.s. spartelen.



Afb. 4

nauwste samen met het feit dat de sprinkhaan een woestijndier is en leeft in een omgeving waar het gevaar van uitdroging zeer groot is, terwijl het dier vaak aan sterke zonbestraling wordt blootgesteld. De kakkerlak daarentegen is meer vochtminnend, leeft bij voorkeur in het duister en zoekt in tropische streken plaatsen op, zoals W.C.'s, badruimten, kortom oorden, waar het microklimaat behoorlijk vochtig kan zijn.

De schommelingen in percentages van gesloten zijn blijken bij Schistocerca als regel veel minder groot dan bij Periplaneta. Daarin toont het dier eens te meer zijn neiging om zijn water te sparen. Als de dieren rustig blijven zitten en niet spartelen ligt dit cijfer vrijwel onveranderd boven de 90. Kort na de narcose bereikt het percentage dit niveau.

Zodra echter het dier in meerdere of mindere mate gaat spartelen, hetzij met de poten meer of minder heftige bewegingen maakt, dan wel het abdomen teleskoopachtig in- en uittrekt, zien wij het % van dicht zijn dalen, maar ook in dit geval is de daling minder diep dan bij Periplaneta.

3. *De invloed van insecticiden op de stigmabewegingen bij Periplaneta americana en Schistocerca gregaria*

Aangezien bij P. americana de bewegingen der stigmakleppen grotere schommelingen maken dan bij S. gregaria, was het reeds van het begin af te verwachten, dat bij eerstgenoemde soort de invloed van insecticiden op de ademhalingsbewegingen sterker zou zijn dan bij Schistocerca. Dat bleek ook inderdaad het geval. De invloed treedt bij Periplaneta veel scherper en op meer spectaculaire wijze aan het licht, vooral in het geval van lindaan, het gamma-isomeer van HCH.

Verder werden nog onderzocht aldrin, dieldrin.

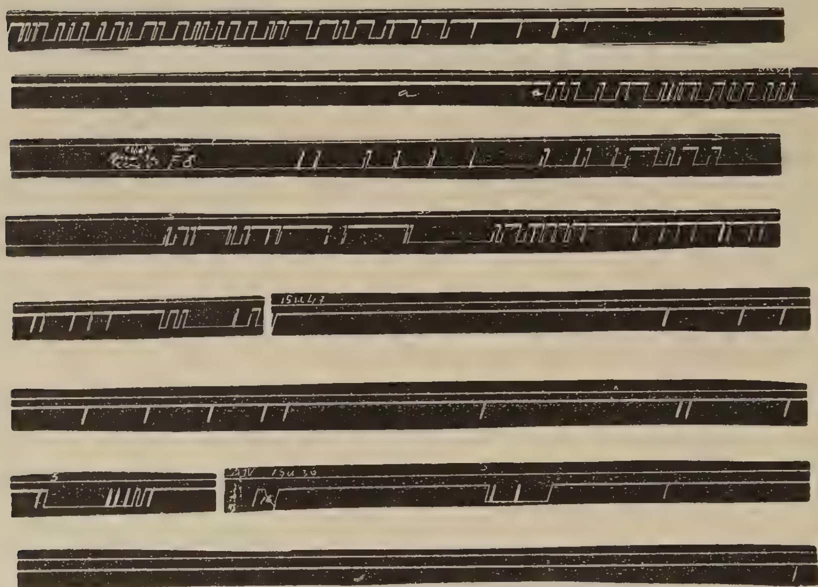
Van de genoemde middelen werd een acetonische oplossing gemaakt en hiervan zoveel op het dier geappliceerd, dat het een hoeveelheid van 7,5 gamma ontving.

Bij dieldrin kreeg het dier, behalve een lapje dat enige tijd te voren met dieldrin was geïmpregneerd, een gaasje gedrenkt in vochtige dieldrin op het lichaam, welk gaasje werd vastgebonden met behulp van sellotape. Daar de uitkomsten bij Periplaneta veel spectaculairder waren dan bij Schistocera gregraria, die van de aangebrachte middelen maar weinig schade ondervond, althans gedurende de door ons gekozen waarnemingsperiode, willen wij ons bij de beschrijving van de waargenomen verschijnselen beperken tot wat aan Periplaneta werd waargenomen.

De meeste proeven werden genomen met lindaan en dieldrin, een enkele proef slechts met aldrin.

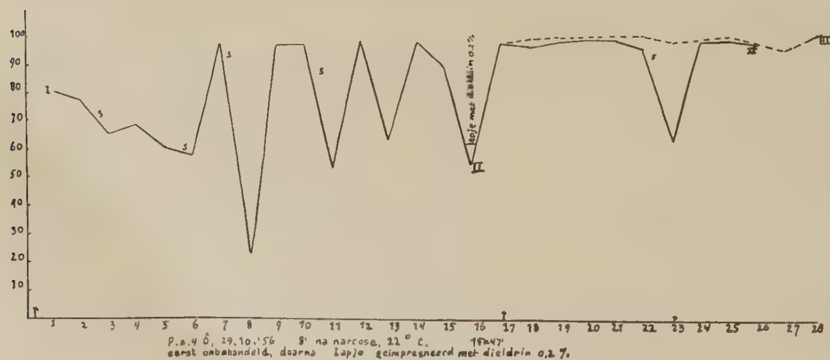
Lindaan, 7.5 microgram

Na het aanbrengen van een druppel lindaanemulsie op de kop tussen de antennen, zien wij de lijn die het % van dicht zijn weergeeft, bijna loodrecht naar beneden lopen en het duurt niet lang of de ademhalingsopening blijft ononderbroken open (Afb. 1,2) De snelle reactie wijst er o.i. op, dat de bedoelde lindaan centraal heeft aangegrepen en een onmiddellijke verlamming van de centra, die de klepbeweging verzorgen, ten gevolge heeft gehad, zodat de ademhalingsopeningen voortaan voortdurend open blijven staan.



Afb. 5

P. a. 4, ♂ eerste 2 repen en begin 3 eerst normaal, onbehandeld, bij F. applicatie met lapje geimpregneard met dieldrin 0,2%; 15.47' 2e periode met dieldrin, 16u.46' derde periode dieldrin.



Afb. 6

Dieldrin

Bij dieldrin vindt het omgekeerde plaats (Afb. 5,6). Soms vrij snel, maar meestal pas na enkele uren neemt het % dicht blijven van de ademhalingsopeningen toe, tot het stigmaklepje voortdurend gesloten blijft. Dit doet ons aan een periphere regeling denken en geeft tevens aan, dat dieldrin, hetzij dat dit op een vochtig gaasje wordt geappliceerd, dan wel door middel van een droge lap die enige tijd te voren met dieldrin was doordrenkt, veel langzamer in het insect doordringt dan lindaan.

Aldrin

Met aldrin werd slechts één enkele proef genomen, die vermoedelijk niet lang genoeg is voortgezet. Na een aanvankelijke daling onmiddellijk na het appliceren van aldrin volgt een geleidelijke stijging. Alles wijst erop dat het beeld in grote trekken gelijk zal zijn aan dat van dieldrin.

SAMENVATTING

1. De bewegingen der stigmakleppen, en vooral de percentages van dicht zijn der kleppen gedurende de gehele waarnemingstijd, vertellen ons iets over de aard der dieren waarmee wij werken. Zo is Schistocerca gregaria, en in iets mindere mate Locusta migratoria, een typisch woestijndier, dat zijn stigmakleppen gedurende practisch de gehele waarnemingstijd dicht houdt, terwijl *Periplaneta americana* een vochtminnend dier is, dat per waarnemingstijd, zijn stigmakleppen als regel een lager percentage van den tijd gesloten houdt dan *Schistocerca*.
2. Van dicht zijn wordt alleen dan gesproken wanneer de rand van het beweeglijke klepje aansluit op de richel aan de overzijde van de opening.
3. De dieren, dit geldt vooral voor Periplaneta americana, vertonen grote onderlinge verschillen, maar het is zeker niet juist dat de opening bijna steeds gesloten blijft.
4. Spartelen heeft, vooral als het herhaald wordt, sterke invloed op het open gaan wat begrijpelijk is, daar wij sinds Hazelhoff weten, dat koolzuur ten zeerste inwerkt op de stigmakleppen en een verhoging van het koolzuurgehalte in hun omgeving deze tot open gaan prikkelt.
5. Er bestaat een zekere rhythmiek in de stigmabewegingen. Series bewegingen worden afgewisseld door perioden dat er min of meer rust heerst.
6. Onze methodiek staat ons niet toe om iets te zeggen over het verband tussen de waargenomen bewegingen en de periodieke expiratie, zoals deze door Punt bij zijn onderzoekingen met de diapherometer werden verkregen. Wel werden in het inwendige van het dier, in de diepte van de ademhalingsopeningen sterke trekkingen waargenomen, die mogelijkerwijze met expiratie in verband staan. De rhythmiek die werd waargenomen verloopt sneller dan dit uit Punts onderzoekingen naar voren komt.
7. Lindaan aangebracht op het voorhoofd tussen de antennen werkt zeer snel, naar wordt aangenomen, centraal in op de bewegingen der kleppen en doet deze permanent open staan.
8. Dieldrin werkt veel langzamer in en voert tenslotte, na enkele uren, via een perifere regeling tot een voortdurend dicht blijven van de stigma openingen.
9. Aldrin neemt een tussenpositie in tussen dieldrin en lindaan.

RÉSUMÉ

Recherches sur les mouvements respiratoires des cafards et des sauterelles, sous conditions naturelles et sous influence d'insecticides

Se basant sur les recherches de Hazelhoff, 1926, qui a étudié la régulation des mouvements des valvules de stigmates chez Periplaneta american L., les observateurs ont, au moyen de régistrations kymografiques, fait une étude comparative des mêmes mouvements chez cafards et sauterelles.

Ils ont constaté des différences caractéristiques entre des sauterelles (animaux de désert) et des cafards (animaux hydrophiles). Le cafard tient ouvert ses stigmates plus longtemps, calculé en % du temps d'observation, que la sauterelle, laquelle economise son eau.

Par comparaison de l'action des divers insecticides (gamma-HCH, les autres isomères de HCH, aldrin, dieldrin) des différences nettes furent observées dans la réaction des stigmates sous l'influence des insecticides mentionnés.

SUMMARY

Investigations on the respiratory movements of cockroaches and locusts and the influence of insecticides on the movements of the spiracular valves

In continuation of the investigation of Hazelhoff 1926, the authors made registrations of the movements of the spiracular valves with the help of the kymographion.

Very conspicuous differences were found in this respect between locusts (insects of the desert) and cockroaches (hydrophilic animals). The cockroach kept its spiracular valve much longer open, calculated in percentage of the observation period than the locust, which apparently economises its body-fluids.

By comparing the valve movements under normal conditions with those of the same animals under influence of insecticides (gamma-BHC, as well as the other isomers of BHC, aldrin and dieldrin) distinctly different reactions were found of the valvular movements of the mentioned insects.

ZUSAMMENFASSUNG

Untersuchungen über die atmungsbewegungen von Schaben und Heuschrecken und ihre Beeinflüssung durch Insektiziden

Gegründet auf die Untersuchungen Hazelhoffs (1926) über die Reglung der Stigmabewegungen bei *Periplaneta Americana L.*, haben die Untersucher mit Hilfe des Kymographions Registrierungen der Stigmabewegungen obengenannte Tiergrupen gemacht.

Aus diesen Beobachtungen kamen sehr kennzeichnende Unterschiede zwischen Heuschrecken (Wüstetiere) und Schaben (hygrophil) hervor.

Die Schabe halt im Algemeinen ihre Atmungsöffnung, in Prozent des Beobachtungszeit, länger offen als die Heuschrecke, die augenscheinlich sehr sparsam mit seiner Körperflüssigkeit umgeht.

Weiter ist es möglich durch Behandlung mit verschiedenen Insektiziden (gamma-HCH und ander HCH-Isomeren, Aldrin und Dieldrin) deutlich unterschiedene Reaktionen der Atmungsbewegungen hervor zu rufen.

LITERATUUR

ASPEREN K. v. 1954. — Interaction of the isomers of Benzenehexachloride in mice. *Arch. Intern. de Pharmacodynamie et de Thérapie*, 99, 3-4L360-377.

BOT J. 1949. — Bijdrage tot die verklaring van die werking van die insektisides DDT, Hexachloorsiklohexaan, Chlordane en Toxaphene. *Thesis*, Leiden, 1-135.

DRESDEN D. 1949. — Physiological investigations into the action of DDT. *Thesis*, Utrecht, 1-114.

HAZELHOFF E. H. 1926. — Regeling der ademhaling bij insecten en spinnen. *Thesis*, Utrecht, 1-127.

HAZELHOFF E. H. 1928. — Carbon dioxide a chemical, accelerating the penetration of respiratory insecticides into the tracheal system by keeping open the tracheal valtes. *Jl. Econom. Entomol.* 21, 5 Oct.

PUNT A. 1943. — De gaswisseling van enkele bloedzuigende parasieten van warmbloedige dieren. *Onderz. physiol. lab.* Utrecht, 8e R III, 122-141.

PUNT A. 1949. — The respiration of insects. *Physiologia comparata et Oecologia* II, 59-74.

PUNT A. 1950. — The influence of insecticides on respiration in insects. *Acta physiologica et pharmacologica Neerlandia* 1, 182-189.

Prof. Dr. J. De Wilde, Wageningen

V : De vraag betreffende de centrale of perifere werking van HCH en andere insecticiden op destigma-bewegingen zou wellicht kunnen worden beantwoord door proeven met observatie ic. het verwijderen van het buikmerg een ingreep die bij de kakkerlak eenvoudig is uit te voeren.

A : Dankt collega de Wilde voor zijn suggestie.

WERKING EN SPECIFICITEIT VAN DDVP

door

K. van Asperen

Lab. voor Insekticidenonderzoek T.N.O. Vondellaan 6, Utrecht

I. Inleiding

Een goed insekticide paart een grote giftigheid voor het te bestrijden schadelijke insekt aan een lage toxiciteit voor mens en zoogdier. Slechts weinig insekticiden voldoen aan deze voorwaarde en de fosfor-insekticiden onderscheiden zich hierin zeker niet gunstig van de andere. Ze zijn in het algemeen slechts bruikbaar, doordat bij de toepassing de grootst mogelijke voorzichtigheid in acht wordt genomen en doordat de giffen in het algemeen gemakkelijker penetreren in het insektelichaam dan in dat van mens of zoogdier. De vele ongevallen demonstreren ongetwijfeld, dat de fosfor-insekticiden in wezen niet veel minder giftig zijn voor mens en zoogdier dan voor insekten, d.w.z. dat de door de werking gestoorde structuren of functies bij zoogdieren niet minder gevoelig zijn voor het gebruikte gif dan die bij de insekten. Het ideaal zou uiteraard zijn over een gif te beschikken, dat een functie of structuur in het insekt aantast, die bij mens en zoogdier geheel ontbreekt. Wij denken hierbij b.v. aan de mogelijke toepassing van bij de insekten-metamorfose betrokken hormonen als het kortelings geisoleerde ecdyson e.d. Wij zouden echter vaak al zeer tevreden zijn, wanneer een op het uiteindelijk werkingsmechanisme berustend verschil in gevoeligheid aanwezig is. Een naar onze mening dergelijk geval zal in het hiernavolgende worden geanalyseerd.

II. Giftigheid van DDVP voor muizen, kakkerlakken en huisvliegen

DDVP (O,O-dimethyl-O-2,2 dichloorvinyl fosfaat) is een organische fosforverbinding, die een uitzonderlijk hoge giftigheid voor de huisvlieg paart aan een vrij geringe voor zoogdieren. Dit moge duidelijk blijken uit de in tabel I verstrekte in onze eigen proeven verkregen gegevens : de LD_{50} bij injectie (omgerekend op lichaamsgewicht) ligt voor muizen (♂♂, ca. 20 g) ongeveer 100 × zo

hoog als voor huisvliegen. Kakkerlakken zijn eveneens minder gevoelig dan huisvliegen, het verschil is evenwel veel minder opvallend.

TABEL I

DDVP : Giftigheid en Esterase-remming

LD_{50}		I_{50}	
Muis intraveneus	10 µg/g.	Muizehersen-ChE	1×10^{-7} M.
Muis subcutaan	15 µg/g.	Muizehersen-AliE	$1{,}5 \times 10^{-7}$ M.
		Paardeserum-ChE	$1{,}5 \times 10^{-7}$ M.
Huisvlieg injectie	0,18 µg/g.	Huisvlieg-ChE	$1{,}5 \times 10^{-9}$ M.
Huisvlieg applicatie	1,5 µg/g.	Huisvlieg-AliE	1×10^{-9} M.
Am. Kakkerlak injectie	0,5 µg/g.	Kakk.-zenuwst.-ChE	$1{,}1 \times 10^{-7}$ M.

DDVP is een betrekkelijk vluchtige verbinding en heeft daardoor ook een opvallend hoge dampgiftigheid, althans voor huisvliegen en wellicht voor andere dipteren. Het verschil in gevoeligheid tussen muizen, kakkerlakken en huisvliegen wordt duidelijk gedemonstreerd door het verloop van de volgende twee experimenten :

I. Een glazen cilinder (inhoud ca. 3 liter) werd met behulp van fijn metaalgaas in twee compartimenten ingedeeld (zie figuur 1.).

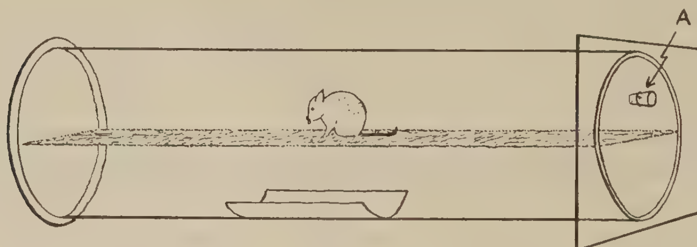


Fig. 1

In het onderste werd een stukje filtreerpapier (ca. 5 × 10 cm) gelegd, waarop 20 mg DDVP was aangebracht. In het bovenste compartiment werd een muis (gewicht 30 g) opgesloten. De muis bracht hierin 6 uur door zonder enige waarneembare abnormaliteit. Werden via opening A vliegen geintroduceerd in het bovenste compartiment, dan stierven deze binnen twee minuten. Kakkerlakken vertoonden onder soortgelijke omstandigheden een veel geringer gevoeligheid dan vliegen. Boven 10 mg DDVP gebracht stierven 5 kakkerlakken na gemiddeld 30 min. en namen dus een tussenpositie in tussen huisvliegen en muizen.

II. In een zeker niet tochtvrije ruimte van circa 3 m³ werd een filtreerpapier opgehangen met 280 mg DDVP. Enige honderden huisvliegen, onmiddellijk daarna in deze ruimte losgelaten, waren na 30 min. dood. Na 4 dagen bleek de sterfte bij in deze ruimte

gebrachte vliegen iets langzamer op te treden, maar nochtans vrijwel volledig te zijn. Een viertal muizen verbleef evenwel 4 dagen in deze ruimte zonder dat enige afwijking kon worden geconstateerd. Zelfs werden op de 2de dag van de proefperiode zeer voorspoedig een aantal jongen geboren. Ook Periplaneta americana bleek vrijwel ongevoelig voor de DDVP-damp onder deze omstandigheden. Blattella germanica vertoonden in een klein percentage der gevallen lichte symptomen van vergiftiging na een dag expositie.

Er kan dus geen twijfel aan bestaan, dat er opvallend grote verschillen in gevoeligheid bestaan tussen muizen en wellicht kakkerlakken enerzijds en huisvliegen anderzijds en we hebben ons moeite gegeven de oorzaken hiervan na te gaan.

III. De remming van esterasen door DDVP

Uitgaande van de veronderstelling, dat DDVP als andere organische fosforverbindingen zijn werking uitoefent door de remming van de cholinesterasse-activiteit of eventueel de activiteit van andere esterasen in het dierlijk organisme, hebben wij deze remmingsprocessen in vitro onderzocht.

Methode : De cholinesterase-activiteit werd manometrisch bepaald met behulp van de Warburg-apparatuur bij pH 7,4 (bicarbonaat-CO_2-buffer) en 37°C. Enzympreparaten werden verkregen : *a.* door paardeserum met Ringeroplossing te verdunnen, *b.* door muizehersenen in een klein type Waring-blender met Ringer-oplossing te homogeniseren, *c.* door een gelijksoortige behandeling van hele vliegen, *d.* door vliegekoppen in een mortier te verwrijven en daarna de verkregen fijne massa te suspenderen in Ringer-oplossing. De dan verkregen suspensies waren voldoende homogeen om een representatieve monstername bij pipetteren te garanderen. Aangezien de enzymconcentratie grote invloed heeft op de dosis DDVP nodig voor 50% remming werd voor vergelijking steeds gestreefd naar een controle-activiteit (activiteit zonder remmer) overeenkomende met een CO_2-productie van ca. 120 mm^3 per 30 min.

Onder onze proefomstandigheden bleek de I_{50} (= conc. DDVP, die 50% enzymremming veroorzaakt) voor de cholinesterasen in paardeserum, hersenweefsel van muizen en het centrale zenuwstelsel van kakkerlakken ongeveer 10^{-7} M. te zijn. De vliegencholinesterase werd echter 50% geremd door slechts 10^{-9} M. Een dergelijk verschil werd eveneens gevonden, toen de remming van de ali-esterase-activiteit (substraten : tributyrine en methylbutyraat) door DDVP werd nagegaan. De ali-esterase-activiteit in muizehersenen werd 50% geremd door circa $1,5 \times 10^{-7}$ M., maar de I_{50} van DDVP voor de ali-esterase-activiteit van huisvliegen was slechts ongeveer 10^{-9} M.

Tabel I toont de verschillende I_{50}-waarden en maakt het ons gemakkelijk deze te correleren met de LD_{50}-waarden, die een maat zijn voor de giftigheid. De conclusie dringt zich op, dat de geringere rembaarheid der esterasen van muizen en kakkerlakken de oorzaak is van hun geringere gevoeligheid voor DDVP. Men verlieze evenwel niet uit het oog, dat de opvallende correlatie van de beide fenomenen op zichzelf geen bewijs van een onderlinge

causale samenhang behoeft te zijn. De genoemde correlatie immers zal evengoed optreden wanneer de grootheden gevoeligheid en rembaarheid der cholinesterase beide bepaald worden door een gemeenschappelijke veroorzakende factor. Rembaarheid en gevoeligheid zijn dan dus in de keten van oorzaak en gevolg a.h.w. parallel geschakeld i.p.v. in serie. Deze laatste uitspraak drukt een ons inziens gerechtvaardigde twijfel uit aan de veelal weinig aanvechtbaar geachte hypothese, dat de werking van DDVP en die van andere organische fosforverbindingen bij zoogdier en insekt berust op het door deze verbindingen uitgeoefende anti-cholinesterase-effect. Hoewel hiervoor zeker vele argumenten zijn aan te voeren menen wij toch op grond van eigen waarnemingen (van Asperen 1956), dat dit probleem nog op zijn minst ter discussie dient te worden gesteld.

In dit verband was het zeer belangrijk een verklaring te geven voor het grote verschil in rembaarheid tussen de cholinesterase-preparaten van muizehersenen en van huisvliegen. Hebben we hier te doen met een verschil in geaardheid der betrokken enzymen of met verschillen in begeleidende factoren, zoals b.v. binding van DDVP aan andere eiwitten, afbraak van DDVP door andere in de gebruikte homogenaten aanwezige enzymen e.d.? Wanneer het laatste van deze beide alternatieven waar zou zijn, wanneer dus de DDVP-concentraties in de muizehersen-homogenaten door bepaalde bij de vliegen ontbrekende factoren zo sterk verlaagd zouden worden, dat ten slotte nog slechts een geringe fractie in actieve vorm zou overblijven, dan zou dit de oorzaak kunnen zijn, aangenomen dat dezelfde factoren ook *in vivo* werkzaam zijn, zowel van de geringere rembaarheid der ChE-activiteit als van de geringe giftigheid bij muizen. Van een onderling causaal verband behoeft dan dus geen sprake te zijn.

Veel moeilijker is het een onderling causaal verband te loochenen, wanneer de verschillen in rembaarheid zouden moeten worden toegeschreven aan verschillen tussen de enzymen zelve.

Het feit, dat ook de ali-esterase-activiteit bij Musca door veel lager DDVP-concentraties wordt geremd dan bij de muis, houdt op zichzelf een aanwijzing in, dat de oorzaak der verschillen althans ten dele moet worden gezocht in een voor beide remmingsprocessen gemeenschappelijke factor.

IV. Karakterisering van vliegencholinesterase

a. Substraatspecificiteit

Het leek aangewezen allereerst tot een nadere karakterisering van de cholinesterase en eventuele andere esterasen bij vliegen te komen teneinde te kunnen nagaan of daarbij duidelijke verschillen met de zoogdiercholinesterasen aan het licht treden. Daartoe

werd de substraatspecificiteit van vliegekoppen-homogenaten nagegaan. Behalve een viertal choline-esters werden ook verscheidene andere esters als substraat aangeboden, waarbij steeds werd nagegaan of de gevonden activiteit berustte op de werkzaamheid van het enzym, dat acetylcholine splitst en dat wij als hierboven en als gebruikelijk de naam ,,cholinesterase'' verleenden. Het bleek nu, dat in de kop van Musca domestica de cholinesterase vrijwel de enige aanwezige esterase is, zulks in tegenstelling tot thorax en abdomen, waar de ali-esterasen (substraten methylbutyraat en tributyrine) juist de grootste activiteit ontplooien, althans bij *in vitro* experimenten met homogenaten. Fig. 2 geeft een beeld van de cholinesterase-activiteit van vliegekoppen tegen-

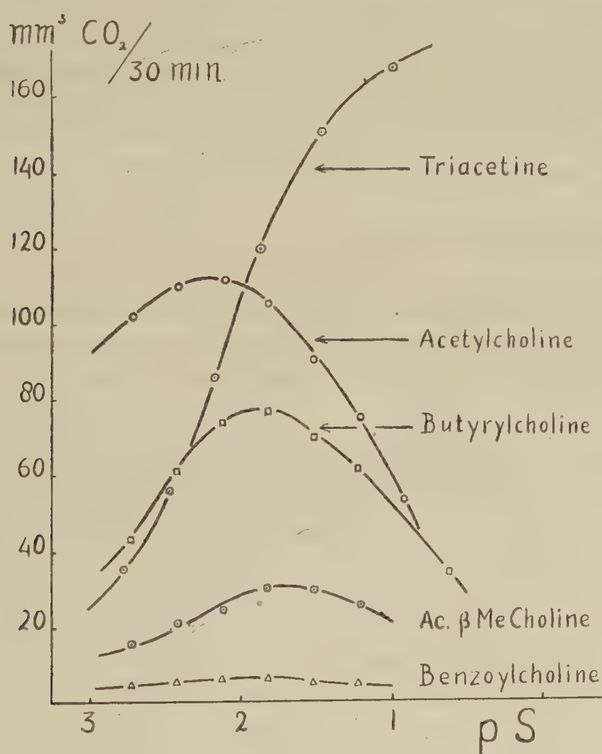


Fig. 2

over verschillende substraten in verschillende concentraties. Duidelijk blijkt hieruit, dat de cholinesterase, aanwezig in vliegekoppen, in grote lijnen de karakteristieke eigenschappen van de z.g. ,,true cholinesterase'', zoals die ook voorkomt in zoogdierhersenweefsel (Augustinsson 1950), vertoont : remming door overmaat substraat voorzover het de choline-esters betreft, een hoge activiteit

tegenover triacetine bij hoge substraatconcentraties en vrijwel geen activiteit tegenover benzoylcholine. Afwijkend is alleen de vrij hoge activiteit van de homogenaten tegenover butyrylcholine, terwijl deze bij de zoogdierpreparaten over het algemeen zeer gering is. In onze vele experimenten vonden wij geen enkele bevestiging van de waarneming door Metcalf, March en Maxon (1955), dat bij stijgende butyrylcholine-concentratie de enzym-activiteit blijft toenemen en de boven gesignaleerde remming door overmaat substraat hierbij niet optreedt. Wij konden verder nog aantonen, dat o-nitrofenylacetaat zelfs in vrij lage concentraties slechts iets minder snel wordt gehydrolyseerd dan acetylcholine door vliegekoppen-homogenaten, dat amylacetaat vrij goed en methyl- en ethylacetaat vrijwel niet worden gesplitst. De resultaten samenvattend mag geconcludeerd worden, dat er wellicht specifieke verschillen met de hersencholinesterase van zoogdieren bestaan, maar dat deze niet zo opvallend zijn, dat van een geheel ander type enzym kan worden gesproken. Het probleem is daarna verder aangepakt door experimenten, waarin muizehersen-homogenaten werden gecombineerd met vliegekoppen-suspensies.

b. Combinatie-experimenten

Deze werden als volgt uitgevoerd. Bereid werden een homogenaat van muizehersenen en een homogenaat van vliegekoppen. De cholinesterase-activiteit van beide werd gemeten, alsmede de remmingen die optreden na toevoeging van 10^{-9}, 10^{-8} en 10^{-7} M. DDVP. Het bleek daarbij, dat 10^{-8} M. DDVP de vliegekoppen-activiteit voor 100%, maar de muizehersen-activiteit slechts voor ongeveer 10% remde, zulks in overeenstemming met de gevonden I_{50}-waarden. Daarnaast werden ook mengsels der beide homogenaten (HK = 1 deel hersensusp. + 1 deel koppensusp.; HK_3 = 1 deel hersensusp. + 3 delen koppensusp.; HK_9 = 1 deel hersensusp. + 9 delen koppensusp.) aan 10^{-8} M. DDVP blootgesteld en de gevonden remmingen vergeleken met die, welke door ons berekend werden op grond van de twee hypothesen, die reeds eerder werden aangeduid en die hieronder nader zullen worden uitgewerkt.

Hypothese 1. *Er is geen wezenlijk verschil tussen de cholinesterasen in beide homogenaten. Het verschil in rembaarheid door DDVP wordt veroorzaakt door de aanwezigheid, in muizehersenen, van de cholinesterase begeleidende DDVP-bindende moleculen. Dergelijke moleculen zullen uiteraard een deel van de toegediende DDVP-moleculen voor zich opeisen, zodat meer DDVP nodig is om een bepaalde remming te verkrijgen dan bij afwezigheid ervan, zoals het geval is in vliegekoppen-homogenaten.*

De aanwezigheid van een grote overmaat andere DDVP-bindende eiwitmoleculen naast de cholinesterase-moleculen wordt

o.a. gesuggereerd door de waarneming van Cohen en Warringa (1953), dat in rundererytrocyten naast de cholinesterase een grote overmaat ander DFP-bindend eiwit aanwezig is. Dat iets dergelijks ook in muizehersenen en dan met betrekking tot DDVP het geval zou zijn, is dus meer dan alleen denkbeeldig.

Stellen wij de affiniteit van de ChE en die van de andere bindende moleculen gelijk dan zal het muizehersenpreparaat naast elk ChE-mol. 99 andere DDVP-bindende moleculen bevatten, zodat de voor een bepaalde remming nodige hoeveelheid DDVP 100 × zo groot is als bij vliegekoppen. Uitgaande van het hiervoor gestelde is het mogelijk de in mengsels te verwachte remming bij benadering te berekenen.

Stel dat een bepaald vliegekoppen-homogenaat a ChE-mol./ml bevat, dan zal een hersenhomogenaat met dezelfde activiteit ook a ChE-mol./ml bevatten, maar daarnaast 99 a andere DDVP-bindende mol., totaal dus 100 a DDVP bindende mol. Een DDVP-conc. van p mol./ml. zal dan, aannemend dat we met een irreversibele remming te maken hebben, het hersenhomogenaat $\frac{p}{100a} \times 100 = \frac{p}{a}$ % remmen. Het mengsel HK zal a ChE-mol. en 49,5 a andere DDVP-bindende mol./ml. bevatten en de remming door de genoemde DDVP-conc. is $\frac{p}{50{,}5a} \times 100 = 1{,}98 \times \frac{p}{a}$ %. Voor de mengsels HK_3 en HK_9 wordt de berekening op overeenkomstige wijze uitgevoerd.

Hypothese 2. *De verschillen in rembaarheid door DDVP tussen muizehersensuspensies en vliegekoppen-suspensies zijn het gevolg van verschillen tussen de enzymen zelf.*

Worden nu mengsels van beide homogenaten onderzocht dan zullen de twee cholinesterasen zich geheel onafhankelijk van elkaar gedragen en de op grond van deze hypothese te verwachten remming is eenvoudig te berekenen.

Stel b.v. dat we mengsels van homogenaten met gelijke activiteit blootstellen aan een DDVP-conc. die vliegekoppen-ChE a % en muizehersen-ChE b % remt, dan zal de remming voor HK $\frac{a+b}{2}$ %, voor HK_3 $\frac{3a+b}{4}$ % en voor HK_9 $\frac{9a+b}{10}$ % bedragen.

In tabel II zijn de resultaten samengevat van een tweetal experimenten. Men ziet onmiddellijk dat de voor de mengsels gevonden remmingspercentages vrijwel volledig overeenstemmen met die, welke kunnen worden berekend op grond van de *hypothese* 2. De conclusie lijkt dus gerechtvaardigd, dat de verschillen in rembaarheid moeten worden toegeschreven aan verschillen in eigenschappen tussen de enzymen, althans voor een belangrijk deel.

TABEL II

Remming homogenaat-mengsels door DDVP

H = Homogenaat van muizehersenen, conc. 9 mg weefsel/ml
K = Homogenaat van vliegekoppen, conc. 1,25 koppen/ml

2 ml homogenaat wordt 1,5 uur geincubeerd met DDVP, daarna wordt 0,2 ml 3% acetylcholine-chloride toegevoegd en het reactieverloop manometrisch gevolgd. Van elk homogenaat of homogenaat-mengsel wordt eerst opgegeven de activiteit (act.) in mm^3 CO_2/30 min. bij 37° C, daarachter de remming (rem.) door de in het hoofd van de kolom opgegeven DDVP-conc. Verdere explicatie in de tekst.

	K			H			HK		HK_3		HK_9	
DDVP-concentratie	0 act.	10^{-9} rem.	10^{-8} rem.	0 act.	10^{-8} rem.	10^{-7} rem.	0 act.	10^{-8} rem.	0 act.	10^{-8} rem.	0 act.	10 re
Proef I	117	73%	101%	114	11%	65%	120	61%	123	84%	117	96
	berekend volgens hypothese 1 :							10%		20%		45
	berekend volgens hypothese 2 :							56%		78%		92
Proef II	143	54%	101%	111	10%	61%	132	61%	138	83%	142	94
	berekend volgens hypothese 1 :							10%		20%		45
	berekend volgens hypothese 2 :							61%		81%		93

c. De aard van de ChE-remming door DDVP bij vliegen en muizen

Wij willen tenslotte nog ingaan op het karakter van de door ons geconstateerde verschillen. Aanwijzingen daaromtrent putten wij uit de waarneming, dat tijdens de remmingsexperimenten met muizehersen-homogenaten een geleidelijke vermindering van de remming optrad, terwijl deze bij vliegekoppen-suspensies niet werd gezien. Een langdurig voortgezette proef, waarin beide homogenaten werden blootgesteld aan een aantal DDVP-concentraties, toonde overtuigend aan, dat de remming van de hersen-ChE, zij het langzaam, reversibel was, terwijl van een dergelijke reversibiliteit bij het vliegekoppen-homogenaat geen sprake was. Analyse van het verloop der reactie na remming van de muize-hersen-ChE door DDVP leerde, dat circa 2 uur nodig is voor 50% reactivering van het geremde enzym. Dit is redelijk in overeenstemming met de waarde die wordt opgegeven door Aldridge en Davison (1953) voor dimethylfosfaatremmers en konijnenerytrocyten-ChE. Een nadere kwantitatieve uitwerking van de gegevens met betrekking tot de kinetica van de remming is nog niet geschied. Zeker is echter wel, dat de instabiliteit van het enzym-remmer complex (gefosforyleerd enzym) bij muizen de met DDVP te bereiken remming sterk reduceert.

Discussie

Het is nog moeilijk te bepalen in hoeverre het hierboven beschreven verschil in reversibiliteit van de remmingen geheel verantwoordelijk kan worden gesteld voor het gevonden verschil in rembaarheid. Er zijn aanwijzingen, dat dit niet het geval is, waarop hier echter niet nader kan worden ingegaan. Zeker is in elk geval wel, dat het verschil in rembaarheid grotendeels moet worden toegeschreven aan verschillen tussen de enzymen zelf, meer dan aan verschillen in de samenstelling van het milieu, waarin de enzymen werken. Des te merkwaardiger is het, dat met betrekking tot de rembaarheid der aliesterasen soortgelijke verschillen tussen vlieg en muis werden gevonden als hierboven voor de cholinesterasen beschreven (zie tabel I). Al konden wij de invloed van verschillen in milieu, waarbij wij dus in de eerste plaats denken aan binding van DDVP door andere eiwitmoleculen, bij onze experimenten *in vitro* niet aantonen, het is nog geenszins uitgesloten dat deze in het levend organisme een rol spelen.

Niet ontkend kan intussen worden, dat de resultaten van onze experimenten een steun vormen voor de opvatting, dat er een causaal verband bestaat tussen cholinesterase-remming enerzijds en vergiftiging door DDVP anderzijds. Indien deze opvatting juist is, dan is het DDVP dus een insekticide, dat voor vliegen wezenlijk giftiger is dan voor muizen, waarmee wij bedoelen uit te drukken, dat de selectieve toxiciteit hier berust op kwantitatieve of misschien zelfs kwalitatieve verschillen in werkingsmechanisme en niet op perifere factoren als penetratie e.d. Het is een dergelijke op het werkingsmechanisme berustende selectiviteit, waarnaar men bij het ontwikkelen van insekticiden zal moeten blijven streven, omdat deze een o.i. wezenlijk kenmerk vormt van een goed insekticide.

SUMMARY

Action and specificity of DDVP

DDVP (O,O-Dimethyl-O-2,2 Dichlorovinyl-Phosphate) combines an extremely high toxicity to houseflies with a rather low toxicity to mammals. This fact, already indicated in the literature on the compound, could be fully confirmed by our own experiments. It is generally accepted, that organic phosphates exert their action by the inhibition of the activity of cholinesterases or other esterases in the animal body. We, therefore, studied the process of cholinesterase inhibition by DDVP *in vitro*. Under our experimental conditions the I_{50} (= conc. of DDVP giving 50% inhibition of enzymic activity) for the cholinesterases in horse serum, brain tissue of mice and the central nervous system of cockroaches proved to be about 10^{-7} M. Housefly-ChE,

however, was 50% inhibited by only 10^{-9} M. DDVP. We then occupied ourselves with the explanation of this very remarkable difference. Is it caused by differences between the properties of the enzymes themselves or by differences in the composition of the enzyme preparations used, quite apart from the enzymes concerned? Could, perhaps, binding of DDVP with other proteins be an important factor? In order to solve these problems the substrate specificity of the fly enzyme was compared with that of the mammalian cholinesterases, just to see whether there existed any essential differences. From the results obtained (see fig. 2) it can be concluded that as far as substrate specificity is concerned the proporties of the housefly-cholinesterase are very similar to those of mammalian ,,true cholinesterase''. However, inhibition experiments with mixtures of mousebrain and flyhead homogenates, in which the two enzymes worked under identical conditions, led us to believe that there actually are important differences between the cholinesterase of the housefly and that present in mousebrain tissue. A study of the reaction kinetics of the inhibition process in both homogenates revealed that inhibition of mousebrain ChE by DDVP is slowly reversible, 50% reactivation being obtained in about two hours, whereas the inhibition of flyhead ChE is nearly irreversible. We do believe that this difference is a very important factor in causing the large difference in susceptibility of the enzymes to DDVP.

Most probably, therefore, the selective toxicity of DDVP is due to quantitative or perhaps even qualitative differences in the mechanism of action in houseflies and mice. Such real selectivity, in our view, is a very outstanding property of an insecticide.

LITERATUUR

1. ALDRIDGE W. N., and DAVISON A. N., (1953), *Biochem. J.* 55, 763-766.
2. ASPEREN K. VAN, (1956), *Voordracht nov.* '56 voor *Ver. voor Physiol. en Pharmacol.* te Utrecht; Acta Physiologica et Pharmacologica Neerlandica (in druk).
3. AUGUSTINSSON K. B., (1950), in J. B. SUMNER and K. MYRBACK, The Enzymes, vol. 1 part 1, 1950. *Academic Press*, New York.
4. COHEN J. A., en WARRINGA M. G. P. J., (1953), *Biochimica et Biophysica Acta* 11, 52-58.
5. METCALF R. L., MARCH R. B., and MAXON M. G., (1955), *Annals Entomol. Soc. Amer.* 48, 222-228.

Dr. M. H. van Raalte, Wageningen

V : Is de verhouding tussen de activiteit van DDVP op vliegenkoppen en muizenhersenen homogenaat bij iedere pH dezelfde.

A : Dit werd niet onderzocht, bij al onze metingen was de pH ongeveer 7,4. Een grote invloed van de pH, zolang deze in het fysiologisch gebied blijft, verwachten we echter niet. Men onderscheide overigens wel de instabiliteit van het gefosforyleerde (inactieve) enzym, die in de voordracht werd genoemd bij de verklaring van het verschil in rembaarheid en die van het DDVP zelf. Beide zijn afhankelijk van de pH. De instabiliteit van het DDVP zelf speelt geen rol in onze proeven, aangezien de pH daarvoor zeker niet hoog genoeg is. De gevoeligheid van het gefosforyleerde enzym voor alkali is niet volledig bekend, maar grote verschillen in stabiliteit liggen, althans in het fysiologisch pH-gebied, niet in de lijn der verwachting.

PENETRATIE EN WERKINGSDUUR VAN ENKELE SPINTOVICIDEN

door

J. Meltzer

N. V. Philips-Roxane

Mededeling nr. 46 van het Agrobiologisch Laboratorium „Boekesteyn"
's-Graveland (Nederland)

1. Inleiding

Op het 7e Symposium over Phytopharmacie te Gent in 1955 kwam de penetratie van enkele spintoviciden ter sprake (1). Wanneer men de bovenzijde van een boneblad bestreek met een acetonische oplossing van 0,1% CPBS[1]), CPCBS[2], chlorbenside[3]), of tedion[4]), bleken deze stoffen volledige of vrijwel volledige doding te veroorzaken van eieren (respectievelijk de daaruit ontwikkelde larven) welke aan de onderzijde van het blad waren afgezet. Het tijdstip van de behandeling ten opzichte van het tijdstip van de ei-afzetting bleek daarbij van grote betekenis te zijn voor het effect. Werd de behandeling van de bladbovenzijde toegepast nadat de eieren aan de onderzijde waren afgezet, dan doodde alleen CPBS een aanzienlijk gedeelte van de eieren. Werd de behandeling vóór het afzetten der eieren uitgevoerd, dan werd ook bij andere middelen een hoge eisterfte verkregen (zie tabel 1).

Het verband tussen penetratie en werkingsduur is in twee opzichten belangrijk. Indien een snelle penetratie optreedt, dan zouden weersinvloeden van minder invloed kunnen zijn op het spuitresidu dan wanneer geen of een langzame penetratie plaats vindt. Evenwel kan de invloed van de plant op het spuitresidu aanzienlijk groter zijn, naarmate de actieve stof sneller in het blad dringt. In vele gevallen zal de actieve stof omgezet worden in een of meer andere verbindingen. In bepaalde gevallen zal uit de actieve stof een werkzame(re) verbinding gemaakt worden (b.v. in het geval Schradan); in andere gevallen wordt de actieve stof door de plant onwerkzaam gemaakt.

(1) p-chloorphenyl benzeensulfonaat.
(2) p-chloorphenyl-p-chloorbenzeen sulfonaat.
(3) p-chloorphenyl-p-chloorbenzyl sulfide.
(4) 2,4,5,4'-tetrachloor-diphenyl sulfon.

TABEL 1 — TABLE 1

Penetrerende werking van enkele spintoviciden, nadat de bovenzijde van bonebladeren bestreken zijn met een acetonische oplossing van 0,1%. Sterfte van eieren (en larven) van *Tetranychus urticae* Koch aan de onderzijde van het blad

Penetrating action of some red spider ovicides after brushing the upper surface of bean leaves with an acetonic solution of 0.1% Mortality of eggs (and larvae) of *Tetranychus urticae* Koch at the underside of the leaf

Verbinding *Compound*	Eieren gelegd voor de behandeling *Eggs laid before treatment*		Eieren gelegd na de behandeling *Eggs laid after treatment*	
	% eieren sterfte *% egg kill*	Totaal sterfte % *Total kill %*	% eieren sterfte *% egg kill*	Totaal sterfte % *Total kill %*
CPBS	76	100	100	100
CPCBS	2	100	83	100
Chlorbenside	20	100	83	96
Tedion	6	100	92	100

Het spreekt welhaast vanzelf, dat de mogelijke omzettingen in de plant van grote betekenis zullen zijn, zowel voor de directe werkzaamheid op zuigende of bladvretende parasieten, alsook op de duur van de werkzaamheid van een bespuiting. Uit dien hoofde werden een aantal proeven uitgevoerd teneinde zowel over de bladpenetratie als over de werkingsduur gegevens te verkrijgen.

2. Penetratie en werkingsduur van tedion

Een emulsie in water, bevattende 100 dpm tedion, werd door middel van een Agla micro-injectiespuit op de bovenzijde van bonebladeren van ca 30 cm² aangebracht. Per blad werd 0,1 ml met een glazen staaf over de oppervlakte verdeeld. Aangezien de bladeren gemiddeld 50 mg wogen is de toegepaste dosis (10 µg per blad) gelijk aan 0,2 mg per gram bladweefsel. Deze dosis, die een fractie is van de gebruikelijke, werd gekozen, nadat was bepaald, dat dit de grensdosis was, waarmede een goede ovicidewerking werd verkregen, indien de eieren direct op dit residu werden gelegd.

Direct na de behandeling, en vervolgens na 1, 2, 7, 14 en 21 dagen werden nu spintwijfjes op deze bladeren gezet in plastic spintkamertjes, zoals in vroegere publicaties reeds werd beschreven.

Na twee dagen werden de plastic kamertjes en de wijfjes verwijderd en vervolgens werd de sterfte van de eieren en larven 8 dagen later bepaald. Door ook aan de onderzijde van de bladeren eieren te laten afzetten, konden zowel de bladpenetrerende werking als de werkingsduur worden bestudeerd.

In tabel 2 is te zien, dat met deze lage dosis na 0 dagen nog geen maximale ei-sterfte optreedt. Van 1-14 dagen na de behandeling is de ei-sterfte practisch gelijk en bijna volledig. Na drie weken neemt de ei-sterfte af, hoewel de totale doding nog 100% is. Uit dit laatste feit zou afgeleid kunnen worden, dat bij deze dosis de werkzaamheid na drie weken begint af te nemen. Helaas zijn de proefomstandigheden ongeschikt om de bonebladeren nog langer voor infectie te gebruiken.

TABEL 2 — TABLE 2

Eieren- en larvensterfte van bonespint, *Tetranychus urticae* Koch, op boneblad, dat alleen aan de bovenzijde met 10 μg tedion is bestreken
E = % eieren sterfte; L = % larvensterfte; T = totaal sterfte %

Egg and larval kill of *Tetranychus urticae* Koch, on bean leaves which are brushed with 10 μg tedion at the upper surface only
E = % egg kill; L = % larval kill; T = total kill %

Tijdstip van infectie na de behandeling (dagen) *Moment of infection after treatment (days)*	Eieren, gelegd aan bovenzijde van blad *Eggs laid at upperside of leaf*			Eieren, gelegd aan onderzijde van blad *Eggs laid at underside of leaf*		
	E	L	T	E	L	T
0	72	93	99	2	72	72
1	96	96	99	77	65	88
2	98	100	100	43	91	96
7	93	100	100	54	84	95
14	98	63	99	28	37	63
21	75	100	100	30	40	55

Uit het feit, dat de infectie direct na de behandeling nog geen maximale ei-sterfte te zien geeft, zou afgeleid kunnen worden, dat de orale opname door de wijfjes uit het blad een belangrijke factor is, die eerst na één dag volledig tot zijn recht komt. Hoe belangrijk dit effect is blijkt uit de resultaten met de eieren, welke aan de onderzijde van het blad zijn afgezet. De direct na de behandeling afgezette eieren worden practisch niet gedood; de later uitkomende larven nemen tedion uit het blad op, maar dit is blijkbaar eerst na twee dagen in voldoende mate voor hen beschikbaar. Na een week blijkt het tedion-gehalte weer af te nemen, aangezien zowel de ei-sterfte als de totale sterfte twee en drie weken na de behandeling lager zijn dan daarvoor.

Dat inderdaad het in het blad aanwezige tedion voornamelijk oorzaak is van de sterfte werd bewezen door de volgende proeven, waarbij de infectie plaats vond, nadat de behandelde oppervlakte afgesponsd werd met in aceton gedrenkte watten. Teneinde bladbeschadiging te voorkomen werd onmiddellijk na het afsponzen het blad met een schoon watje drooggeveegd. De resultaten van deze proeven zijn neergelegd in tabel 3.

TABEL 3 — TABLE 3

Eieren- en larvensterfte van bonespint, *Tetranychus urticae* Koch, op boneblad, dat aan de bovenzijde met 10 μg tedion is bestreken. Voor de injectie met spint-spintwijfjes is het oppervlak met aceton afgewassen
E = % eieren sterfte; L = % larvensterfte; T = totaal sterfte %

Egg and larval kill of *Tetranychus urticae* Koch, on bean leaves, which were brushed with 10 μg tedion at the upper surface. Before infection with female mites the upper surface is washed with acetone
E = % egg kill; L = % larval kill; T = total kill %

Tijdstip van infectie na behandeling (dagen) *Moment of infection after treatment (days)*	Eieren, gelegd aan bovenzijde *Eggs laid at upperside*			Eieren, gelegd aan onderzijde *Eggs laid at underside*		
	E	L	T	E	L	T
1	58	80	88	21	94	97
2	74	58	92	55	68	92
7	90	75	98	55	87	94
14	89	100	100	42	50	67
21	75	100	100	43	9	45

Aan de bovenzijde van het blad is de ei-sterfte geringer dan bij de vorige proeven, en dit is ook te verwachten, aangezien nu geen tedion meer op het blad aanwezig is. Ook hier zien wij na 21 dagen de eiersterfte afnemen.

Bij de eieren, welke aan de onderzijde van het blad zijn afgezet vinden we geen vermindering van sterfte, vergeleken bij de proeven, waarbij tedion op het blad werd gelaten. Dit is wel verklaarbaar, aangezien de beïnvloeding vanwege de dikte van het blad slechts gering kan zijn. Ook nu zien wij na 7 dagen een vermindering van de totale sterfte optreden.

Resumerende kunnen wij dus vaststellen dat

1. een belangrijk gedeelte van de doding veroorzaakt wordt door tedion, dat in het blad is opgenomen. De eisterfte wordt ten

dele veroorzaakt door de beïnvloeding in het ovarium, nadat het wijfje tedion heeft opgenomen. Bovendien sterven de larven voor een groot deel door oraal opgenomen tedion.

2. dat de werkingsduur van 10 µg tedion per blad van 30 cm^2 of 50 mg ten minste drie weken bedraagt.

3. dat de vermindering van de werkzaamheid na drie weken waarschijnlijk veroorzaakt wordt door een vermindering van het tediongehalte in het blad. Deze vermindering wordt veroorzaakt door bladgroei, en wellicht ook door afvoer van tedion uit het bladweefsel en eventueel door afbraak van tedion.

3. Werkingsduur van enkele mengbare olie preparaten

Zoals hierboven reeds werd opgemerkt, wordt de werkingsduur mede bepaald door de bladpenetrerende eigenschap van de actieve stof. Het zou kunnen zijn, dat de werkingsduur verlengd wordt door een snelle opname van het blad, maar het is ook mogelijk, dat de physiologische afbraakprocessen in het blad de werkzame stof in verloop van tijd sterk reduceren. Het feit, dat CPBS een groot percentage van de op het blad reeds aanwezige eieren doodt, indien het op de andere zijde van het blad wordt aangebracht, maakt het waarschijnlijk, dat de penetratie in het blad zeer snel geschiedt. Minder snel vindt deze doordringing plaats bij chlorbenside, en nog minder snel bij CPCBS en tedion.

In de volgende proeven, werden van CPBS en tedion mengbare oplossingen gemaakt door 1 g actieve stof op te lossen in 3 ml xyleen, waaraan toegevoegd werd 3 ml benzeen en 1 ml Triton X-188. Vervolgens werd deze oplossing aangevuld tot 10 ml met een 50/50 mengsel van xyleen en benzeen.

Ter vergelijking werden ook mengbare oliën gebruikt van butylphenoxy-isopropyl chlooraethylsulfiet, chlorbenside en bis (p-chloorphenyl)-trichlooraethanol. De eerstgenoemde verbinding werd volgens bovenstaand recept tot een preparaat met 10% actieve stof verwerkt. Voor de twee overige stoffen werd gebruik gemaakt van de in de handel verkrijgbare mengbare oliën.

Teneinde de werkingsduur te vergelijken, werd een groot aantal boneplanten gedompeld in de betreffende emulsies. Een deel van de planten werd onmiddellijk na het opdrogen geïnfecteerd met spintwijfjes, welke na twee dagen verwijderd werden. Een tweede groep werd na 7 dagen geïnfecteerd en een derde groep na 14 dagen. Helaas bleek de vierde groep na 21 dagen niet meer geschikt te zijn voor infectie. Acht dagen na verwijdering van de wijfjes werden de sterftepercentages vastgesteld; in tabel 4 zijn de gemiddelden van drie proeven weergegeven.

TABEL 4 — TABLE 4

Werkingsduur van enkele mengbare olie preparaten op bonespint *Tetranychus urticae* Koch
E = % eieren sterfte; T = totaal sterfte %

Residual action of some miscible oil preparations on the red spider mite *Tetranychus urticae* Koch
E = % egg kill; T = total kill %

Residuwerking na : *Residual action after* :		0 dagen *0 days*		7 dagen *7 days*		14 dagen *14 days*	
Preparaat *Preparation*	Conc. act. mat. ppm	E	T	E	T	E	T
Tedion 10% m.o.	100	100	100	98	100	96	100
	30	100	100	85	98	86	98
	10	78	89	50	89	51	85
	3	36	64	20	49	7	18
Chlorbenside 20% m.o. comm. prep.	300	100	100	20	29	0	0
	100	63	79	4	4	0	0
	30	62	65	1	1	0	1
CPBS 10% m.o.	1000	100	100	14	52	2	6
	300	93	100	2	3	2	2
	100	69	88	1	3	0	0
	30	12	63	2	3	0	0
„DDT-OH"* 25% m.o. comm. prep.	300	42	100	28	100	30	100
	100	23	97	36	98	23	62
	30	32	96	8	47	6	35
	10	18	65	1	1	1	1
„Sulphite"** 10% m.o.	300	100	100	0	0	0	0
	100	72	100	1	1	0	0
	30	1	21	1	1	0	0

(*) bis (p-chloorphenyl)-trichlooraethanol.
(**) butylphenoxy-isopropyl chlooraethylsulfiet.

Uit tabel 4 blijkt, dat butylphenoxy-isopropyl-chlooraethylsulfiet na een week zijn werkzaamheid geheel heeft verloren, hetgeen overeenstemt met de reeds bekende gegevens. Bis(p-chloorphenyl)-trichlooraethanol vertoont een veel langere werkingsduur. Na twee weken geeft de concentratie van 300 dpm nog een volledige sterfte van eieren en larven te zien. Beide laatstgenoemde verbindingen zijn ook werkzaam tegen het volwassen stadium. In andere proeven is gebleken, dat het residu van bis(p-chloorphenyl)-trichlooraethanol in deze concentraties na een week niet meer volledig werkzaam is op imagines.

Ten aanzien van de drie overige verbindingen valt het op, dat CPBS, dat volgens het voorgaande de beste bladpenetrerende

werking vertoonde, de geringste werkingsduur bezit. Daarentegen vertoont tedion de langste werkingsduur. Het ligt derhalve voor de hand te veronderstellen, dat de physiologische activiteit van de plant een grote invloed heeft op de werkingsduur. Ook bij tedion ziet men een regelmatige vermindering van de werkzaamheid optreden tussen 0 en 14 dagen na de behandeling. De hoogste concentratie geeft echter nog steeds een volledige sterfte, hoewel hier de helft van de practijk-concentratie is gebruikt. Bij chloorbenside vertegenwoordigt 300 dpm anderhalf keer zoveel als de practijk-concentratie; de practijk-concentratie van CPBS is 250 dpm en ligt dus iets onder deze waarde. Zelfs 1000 delen CPBS per miljoen veroorzaakt na één week geen bevredigende sterfte.

SUMMARY

Penetration and residual action of some red spider ovicides

1. By treating the upper surface of bean leaves with a solution of 0.1% active material and exposing eggs and larvae of *Tetranychus urticae* Koch to the underside of the leaves it appears that the penetrating action of p-chlorophenyl benzene sulphonate (CPBS), chlorbenside, tedion and p-chlorophenyl-p-chlorobenzene-suphonate (CPCBS) is sufficient to kill completely the immature stages.

2. If these compounds are applied to the upperside of the leaves at a moment that there are already eggs present at the underside, only CPBS is killing a high percentage of the eggs. Chlorbenside has a moderate ovicidal effect, whereas tedion and CPBS show only little ovicidal effect. The hatched larvae, however, are completely killed under these conditions.

3. By applying 10 μg tedion to the upper surface of a bean leaf, a total kill of eggs and larvae occurs 0-21 days after treatment, if the eggs are laid on the upperside. If the eggs are laid at the underside complete kill is obtained not before two days after treatment. In the latter case the activity is deminishing two and three weeks after treatment.

4. By applying 10 μg tedion to the upper surface of a bean leaf, and washing off the deposit after 1, 2, 7, 14 and 21 days with acetone, the same results were obtained from two days after treatment on. This result indicates that the active material within the leaf is contributing in a high degree to the action of the treatment.

The oral uptake by the females and the larvae takes a large part in the action of tedion.

5. In dipping tests it is shown that butylphenoxy-isopropyl chloraethylsulphite has no residual activity one week after treatment. The deposit of bis(p-chlorophenyl) trichloroethanol is fully active after two weeks at the concentration of 300 ppm; at lower concentrations the high initial activity is lost.

6. The residual action of CPBS, chlorbenside, and tedion is inversely proportional to their penetrating properties. Two weeks after treatment only tedion remains highly active, whereas the deposits of chlorbenside and CPBS are not.

LITERATUUR

1. MELTZER, J. — Laboratoriumervaringen met specifieke spintoviciden en larviciden. *Med. Landbouwhogeschool. Opzoekingsstation.* Gent **XX** (1955) pp. 309-320.
2. MELTZER, J. — Het onderzoek van acariciden en spintoviciden in het laboratorium. *Tijdschrift over Plantenziekten* **61** (1955) pp. 130-142.
3. MELTZER, J. — Acaricidal properties of 2,4,5,4'-tetrachloro-diphenyl sulphone. *Transact. Xth Int. Congr. Ent.* Montreal 1956 (ter perse).
4. MELTZER, J. — Die akarizide und insektizide Wirksamkeit van 2,4,5,4'-tetrachlordiphenylsulfon (Tedion). *Zeitschr. f. angew. Ent.* 1957 (ter perse).

CONTRIBUTION A LA LUTTE CONTRE L'ARAIGNEE ROUGE (*EOTETRANICHUS TELARIUS*) EN SERRES A VIGNES ET A PECHERS

par

R. Delhaye (1)

Revenant douze années en arrière, nous devons reconnaître que, nonobstant les sérieux progrès réalisés dans la lutte contre ce redoutable ennemi de la vigne et du pêcher, les acaricides utilisés perdent de leur efficacité initiale.

Des biotiques résistants apparaissent insensiblement et en raison même des possibilités de multiplication parthénogénétique de ces acariens, des lignées d'individus réfractaires peuvent aisément se propager.

Chez certains praticiens de la région d'Hoeilaert, il est apparu des sujets résistant aux systémiques, ce qui leur causent de sérieuses inquiétudes.

Espérant apporter une certaine contribution à la lutte engagée, nous avons cru utile de rapporter nos derniers essais de lutte contre la ,,Grise'', comme la nomment les viticulteurs.

* * *

Le composé acaricide, nébulisé au moyen d'un appareil commercial, semble agir chimiquement et physiquement peut-être. Cette dernière particularité aurait une certaine valeur, la destruction des œufs et des chrysalides étant reconnue comme de loin la plus malaisée.

Des quinze premières combinaisons expérimentées en vue d'obtenir une bonne nébulisation, nous avons retenu deux mélanges qui nous ont donné des résultats satisfaisants.

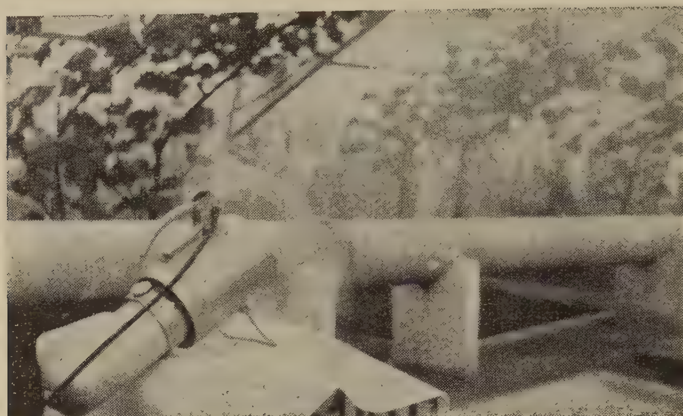
Les brouillards émis ont tenu de 60 à 75 minutes par temps calme.

Ne disposant pas du matériel requis pour mesurer la dimension des micelles, nous nous contenterons de signaler la graduation

---

(1) Ces recherches ont été effectuées avec l'aide de l'I.R.S.I.A. à la Station Provinciale de Recherches Scientifiques en Viciculture de La Hulpe.

sur laquelle l'appareil était réglé (à savoir 3 à 4). Ce qui pourrait correspondre à l'émission de particules de quelques 15 à 25 microns.



D'après les expériences faites, le processus de préparation de l'acaricide semble devoir se faire comme ci-dessous exposé, si nous voulons éviter des floculations ou des précipitations.

En premier lieu, il faut préparer l'émulsion d'un esther phosphorique dans l'eau distillée.

Par ailleurs, nous mélangerons une huile blanche d'été à du Thioricinate d'ammonium et ce mélange sera émulsifié dans l'eau.

Pour terminer, nous verserons la première émulsion dans la deuxième en prenant soin d'agiter énergiquement pendant ce temps.

La quantité d'acaricide incorporée est basée sur celle généralement utilisée à l'occasion d'une pulvérisation dans une serre de 300 m³ de volume.

Les proportions d'eau sont établies pour obtenir la quantité suffisante au remplissage du réservoir de l'appareil, qui est d'une capacité de 1,7 l.

Nous basant sur la suite des manipulations décrites ci-avant, nous avons préparé et appliqué les mixtures suivantes :

Dans la première

1° émulsifier 150 cm³ d'un thiométon dans 525 cm³ d'eau distillée;

2° mélanger d'autre part, 500 cm³ d'une huile blanche d'été à 100 cm³ de thioricinate d'ammonium, pour ensuite l'émulsifier dans 525 cm³ d'eau.

3° la première composition a ensuite été déversée dans la seconde en agitant soigneusement.

Le lendemain de l'application, nous n'avons pas retrouvé d'individus vivants, à l'exception de quelques Typholodromus qui avaient survécu. Ces derniers pourraient d'ailleurs être des auxiliaires précieux dans la lutte contre l'Eotetranichus telarius visé.

Treize jours après le traitement, nous ne décelions toujours pas d'apparence de vie et les œufs, d'aspect encore très frais jusqu'alors, se recouvraient d'un enduit blanchâtre.

Nous avons répété la nébulisation de la même composition dans une serre à pêchers, par une température de 20°C et une H.R. de 85%. Trois heures après le traitement, nous avons observé la mortalité des acariens au stade actif.

Quatre semaines après, il n'y avait aucune trace d'individus vivants et aucune éclosion ne s'était produite.

A partir de ce moment, les observations ont été interrompues par la chute normale des feuilles.

A présent, dans cette même serre, nous ne trouvons pas encore d'araignées sur les jeunes pousses.

Dans l'autre composition

Huile d'été blanche	375 cm^3
Thioricinate d'ammonium	100 cm^3
Esther phosphorique	100 cm^3
Eau distillée (575 + 550)	1125 cm^3

Après le dégagement, les œufs placés en étuve n'ont pas éclos.

Tout au début de cette année, nous avons nébulisé sur du Frankenthal débourré, un mélange contenant 150 cm^3 d'un esther phosphorique, 500 cm^3 d'huile blanche d'été, 100 cm^3 de thioricinate d'ammonium et 750 cm^3 d'eau.

Au moment de l'application, la température était de 24°C et l'H.R. 75%.

Jusqu'à présent, la serre est toujours saine.

Enfin, nous venons de nébuliser un mélange contenant :

100 cm^3 de Thioricinate d'ammonium
125 cm^3 d'un esther phosphorique
1250 cm^3 d'eau.

Le brouillard obtenu a tenu 60 minutes et les araignées au stade actif sont mortes.

Ainsi que vous aurez pu le juger, il ne s'agit ici que de premiers essais. Il nous faut à présent rechercher les quantités minima des constituants pouvant être utilisées.

Toutefois, devant les résultats encourageants, nous avons cru utile de signaler ces essais.

SAMENVATTING

Spintbestrijding in serre's door verneveling

Vernevelingsproeven met acariden werden ondernomen in perzik- en druivenkassen.

Van al de beproefde samenstellingen, schijnen de volgende de meest interessante te zijn.

1) Een emulsie maken van een fosforzure ester in water.
2) Een witte zomerolie vermengen met ammoniumthioricinaat en achteraf, van dit mengsel, een emulsie maken in water.
3) Al sterk roerend, de 1ste emulsie in de 2de gieten.

Volgens dit zelfde principe bereid, heeft de volgende samenstelling, onder andere, goede uitslagen gegeven en heeft zich eidodend getoond.

1) 150 cm^3 ener emulsie van fosforzure ester uit de handel, in 525 cm^3 gedistilleerd water.
2) 500 cm^3 witte zomerolie mengen met 100 cm^3 ammoniumthioricinaat geëmulgeerd in 525 cm^3 gedistilleerd water.
3) De 1ste bereiding bij de 2de gieten.

In nieuwe proeven, werd de witte zomerolie weggelaten, zonder aan de nevelsuspensie te schaden wier duur 60 tot 75 minuten was.

SUMMARY

Red spider control in glasshouses by nebulization

Nebulization trials of an acaricide were carried out on vines and peach-trees under glass.

Of all the compositions tested, the following seems worthing of interest :

1) emulsify a phosphoric ester in water.
2) mix summer white oil with ammonium thioricinate and emulsify the mixture in water.
3) pour emulsion number 1 into number 2, stirring vigorously.

In accordance with this process, the following composition, among others, gave good results and proved ovicidal :

1) emulsify 150 cm^3 of a commercial phosphoric ester in 525 cm^3 of distilled water.
2) mix 500 cm^3 of summer white oil with 100 cm^3 of ammonium thioricinate; emulsify in 525 cm^3 of distilled water.
3) pour emulsion number 1 into number 2.

In additional trials, white oil was left out without detriment to the suspension of the fog, which lasted 60 to 75 minutes.

ZUSAMMENFASSUNG

Spinnmilben bekämpfung in Gewächshäusern durch Vernebelung

Es wurden Versuche über die Vernebelung eines Akariziden-Mittels in Weinstock- und Pfirsichtreibhäusern angestellt.

Von allen erprobten Zusammensetzungen scheint folgende Mischung die interessanteste zu sein :

1) Einen Phosphor-Ester mit Wasser emulsionieren.
2) Sommer Weiss-Ol mit Ammonium Thiorizinat vermischen und diese Mischung mit Wasser emulsionieren.
3) Die Emulsion 1 unter starkem Verrühren in die Emulsion 2 eingiessen.

Nach diesem Prinzip hat besonders folgende Zusammenstellung nebst anderen, gute Ergebnisse abgeworfen und sich als Eitötend bewiesen :

1) 150 cm³ eines Handelsphosphor-Esters mit 525 cm³ distilliertem Wasser emulsionieren.
2) 500 cm³ Sommer Weiss-Ol mit 100 cm³ Ammonium Thiorizinat vermischen und mit 525 cm³ distillierten Wasser zur Emulsion bringen.
3) Die Mischung 1 in der Mischung 2 eingiessen.

In neueren Versuchen wurde kein Weiss-Ol angewendet und dies ohne die Standhaftigkeit des Nebels zu beeinträchtigen, welche von 60 bis 75 Minuten beträgt.

WAARNEMINGEN OVER DE BIOLOGIE EN BESTRIJDING VAN DE AARDBEIMIJT (*TARSONEMUS PALLIDUS BANKS*) IN PRODUCTIEVELDEN

door

M. van de Vrie

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen (1)

1. Inleiding

In vrijwel alle landen waar aardbeicultuur van betekenis voorkomt is de aantasting door aardbeimijt (*Tarsonemus pallidus Banks*) bekend. Zeer veel onderzoek naar de biologie en bestrijding is dan ook reeds verricht, doch een geheel bevredigende bestrijdingsmethode werd nog niet gevonden.

Enerzijds heeft het begassen van het plantmateriaal de mogelijkheid geboden een nieuwe aanplant te beginnen met mijtvrij plantmateriaal, doch na een eventuele herinfectie stonden vrijwel geen mogelijkheden voor bestrijding ter beschikking. Bovendien was de invloed van de gasbehandeling soms nadelig voor de hergroei van de planten.

Behandeling van productievelden met middelen op basis van fosforzure esters gaf wel bestrijding, doch de omslachtigheid van deze methode, namelijk een drievoudige bespuiting met intervallen van 4 à 6 dagen, bleek in de praktijk vaak moeilijkheden op te leveren, zodat de wens naar een meer bevredigende methode bleef voortbestaan.

Het inkorten van de periode waarin de productievelden gehandhaafd bleven gaf wel een vermindering van optreden van de plaag te zien, doch het aanleggen van een nieuw veld en het verkrijgen van het daarvoor geeiste plantmateriaal leverde ook vaak weer problemen op.

Wij zullen ons in dit overzicht uitsluitend bezig houden met de mijtaantasting in productievelden. Velden waarop plantmateriaal vermeerderd wordt blijven dus geheel buiten beschouwing. De reden daarvoor is dat aan de laatste zeer hoge eisen gesteld worden ten aanzien van de gezondheidstoestand van het materiaal; wij hebben

(1) Gedetacheerd bij het Proefstation voor de Fruitteelt in de volle grond te Wilhelminadorp.

nog niet de gelegenheid gehad onze methode aan deze eisen te toetsen, zodat wij hierover nog geen advies kunnen geven. Voor productievelden ligt dit probleem geheel anders; immers, een belangrijke reductie van de aantasting kan de bestrijdingsmethode reeds verantwoord doen zijn.

2. De biologie van *Tarsonemus pallidus Banks* op aardbei

Uitvoerige studies over de biologie van *Tarsonemus sp.* op aardbei zijn verricht door Wiesmann (1940) en Massee (1930). Ook in Amerika is veel aandacht aan deze plaag besteed (Darrow 1928, Munger 1933, Smith 1936). In Duitsland bestudeerden Hahmann en Müller (1951) het optreden en de bestrijding van deze plaag.

Daar wij in Nederland nog geen gelegenheid hebben gehad uitvoerig de biologie en de populatieontwikkeling na te gaan geven wij hier een samenvatting van de vermelde onderzoekingen.

De overwintering vindt plaats door de volwassen vrouwelijke exemplaren. Zij zitten verscholen in het centrum van de plant, tussen de inplanting van de bladstelen en de centrale as. In het voorjaar, zodra de groei van de aardbeiplanten begint, beginnen ook de mijten aktief te worden. Ovipositie vindt plaats tussen de bladvoeten en in de jonge, nog opgevouwen bladeren. Er zouden 5 à 7 generaties tot ontwikkeling kunnen komen, welke elkaar gedeeltelijk kunnen overlappen. De voortplanting gaat vermoedelijk gedeeltelijk parthogenetisch, mannelijke mijten worden pas in het einde van de zomer waargenomen, en dan nog in vrij geringe aantallen. Overwintering van deze mannelijke mijten is niet waargenomen.

Doordat gedurende de wintermaanden een vrij hoge mortaliteit optreedt is de aanvangspopulatie gering. Gedurende de zomermaanden nemen de aantallen mijten per plant sterk toe en bereiken een maximum in augustus-september. De schadesymptomen kunnen vooral worden waargenomen vanaf juni-juli. Naar onze mening speelt hierbij het gedrag van de plant een even belangrijke rol als de aanwezige mijtenpopulatie.

3. Het gedrag van de mijten en hun verdeling over de plant

Gedurende de maanden juli-oktober werden waarnemingen verricht over het gedrag van de mijten en hun verdeling over de plant. Opvallend is dat grote aantallen mijten op twee plaatsen in de planten kunnen worden waargenomen, namelijk in het centrum rond de centrale as en in de jonge nog niet ontvouwen bladeren.

In het centrum bevindt zich een aantal mijten dat enerzijds aangevuld wordt door mijten welke de ontvouwende bladeren

verlaten, anderzijds de nieuwgevormde bladeren infecteert zodra deze daarvoor geschikt zijn. In deze jonge bladeren worden dan eieren gelegd en vindt de gehele ontwikkeling plaats; zodra deze bladeren zich weer ontvouwen verlaten de mijten weer het blad en begeven zich naar het centrum van de plant. De reden waarom de oudere bladeren als voedselbron geweigerd worden is niet bekend, vermoedelijk is behalve de aard van het voedsel ook de luchtvochtigheid van betekenis.

Aangezien de mijten in de opgevouwen bladeren en in het centrum van de plant door bestrijdingsmiddelen zeer moeilijk te raken zijn is het voor de beoordeling van de werking van deze middelen van belang te weten hoe de verdeling van de aantallen mijten over de planten is. Hierover verrichtten wij in augustus 1956 een aantal waarnemingen. Afhankelijk van de plaats waar de mijten zich bevonden werden ze afzonderlijk geteld. De volgende indeling werd daarbij aangehouden :

Centrum : Het hart van de plant. Dit kan zowel een hoofd- als een zijas van verschillende orde zijn.

Stadium a : jong blad, doch nog geheel omsloten door de schutbladen.

Stadium b : jong blad, juist door de schutbladeren heen gegroeid, doch nog niet bezig zich te ontvouwen.

Stadium c : blad dat gedeeltelijk of geheel is ontvouwen, doch nog zeer jong is.

Stadium d : het oudere en het oudste blad.

Tabel 1 geeft een overzicht van de verkregen resultaten :

TABEL 1

Plant	Centrum		Stadium a		Stadium b		Stadium c		Stadium d	
	M	E	M	E	M	E	M	E	M	E
1	84	126	0	0	25	41	64	138	0	0
2	125	384	0	0	34	115	4	18	0	0
3	34	261	0	0	18	94	42	135	2	0
4	65	84	0	0	54	32	38	96	1	0
5	234	98	0	0	84	105	115	151	0	0
6	24	56	0	0	8	48	3	14	0	0
7	5	14	0	0	14	85	0	0	0	0
8	335	221	0	0	32	111	82	139	0	0
9	82	391	0	0	61	74	51	114	0	2
10	24	6	0	0	38	8	14	38	0	0
Totaal	1012	1641	0	0	368	713	413	843	3	2

M = mijten, E = eieren.

Als „mijten" zijn geteld : larven, ruststadia, vrouwtjes en mannetjes.

In procentuele verhoudingen krijgen we de volgende verdeling :

Centrum		Stadium a		Stadium b		Stadium c		Stadium d	
M	E	M	E	M	E	M	E	M	E
56.3	51.2	0	0	20.4	22.2	23.0	26.3	0.3	0.3

Uit deze gegevens blijkt dat ongeveer de helft van de populatie zich bevindt in het centrum van de planten. De jonge blaadjes kunnen, zolang ze nog omsloten zijn door de schutbladeren niet door de mijten geinfecteerd worden. Verder blijkt dat de jonge bladeren, vanaf het moment dat ze door de schutbladeren heen breken totdat ze geheel ontvouwd zijn uitstekend dienen als voedselbron.

De consequenties van deze gegevens zijn wel duidelijk. Immers de mijten in de opgevouwen bladeren zijn zeer moeilijk met een bestrijdingsmiddel te raken; indien met een kort werkend middel gespoten wordt kan vanuit deze bladeren weer hernieuwde aantasting plaats vinden. Ook in het centrum van de plant zitten de mijten goed beschermd, doch door met voldoende druk het insecticide toe te passen zijn deze mijten wel te raken.

4. Bestrijdingsproeven

Met een aantal middelen werd een oriënterende veldproef opgezet om de directe invloed van deze middelen op de mijtenpopulatie na te gaan. De controle werd uitgevoerd 24, 48, 72 en 120 uur na de behandeling. De bespuiting werd uitgevoerd met een rugspuit, terwijl er een ruime hoeveelheid vloeistof werd gebruikt.

Bij de tellingen werd er alleen op gelet of de aanwezige mijten al dan niet door de behandelingen waren gedood en hoe deze resultaten op de verschillende delen van de plant waren. Het tellen van de gehele mijtenpopulatie is namelijk zeer tijdrovend, terwijl door de grote individuele verschillen in aantallen mijten per plant aan de gevonden getallen geen grote waarde gehecht kan worden. Voor elke controle werden 10 planten per behandeling onderzocht; van deze planten was bekend dat ze op het moment van de behandeling ernstig waren aangetast.

Onderstaande gegevens werden verkregen :

TABEL 2

Middel en concentratie	24 uur				48 uur				72 uur				120 uur			
	Centrum		b + c		Centrum		b + c		Centrum		b + c		Centrum		b + c	
	m.l.	m.d.	m.l.	m.d.	m.l.	m.d.	m.l.	m.d.	m.l.	m.d.	m.l.	m.d.	m.l.	m.d.	m.l.	m.d.
ràthion 25% em. 0.1 %	3	9	10	0	6	10	10	0	10	6	10	0	10	4	10	0
alathion 25% em. 0.2%	6	8	10	0	8	6	10	0	10	5	10	0	10	2	10	0
meton (systox) 0.1%	0	10	10	0	0	10	8	5	2	10	10	0	5	6	4	7
lthane 5% w.p. 0.25%	4	10	10	0	0	10	10	0	0	10	10	0	1	10	8	2
drin 18% em. 0.1%	0	10	10	3	0	10	8	5	0	10	9	6	0	10	6	6
behandeld	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0

m.l. : mijten levend; m.d. : mijten dood.

Uit deze gegevens blijkt dat de mijten in de opgevouwen bladeren door de bestrijdingsmiddelen niet geraakt kunnen worden; immers 24 uur na de behandeling worden slechts in 3 planten een aantal dode mijten aangetroffen (Endrin 0,1%). De directe werking op de mijten in het centrum is in alle gevallen duidelijk waar te nemen bij de controle 24 uur na de behandeling. Demeton en Endrin bereiken een zeer hoge doding, de andere middelen een minder hoge. Bij de controle 48 uur na de behandeling verandert het beeld; bij parathion en malathion neemt het aantal planten met levende mijten in het centrum duidelijk toe, dit is het gevolg van hernieuwde infectie vanuit de opgevouwen bladeren. Bij Kelthane en Endrin worden geen levende mijten meer in het centrum aangetroffen. De mijten welke hier vanuit de jonge bladeren naar het centrum terugkeren worden door het residue op de bladstelen en in het centrum gedood.

Bij de controle 120 uur na de behandeling blijkt dat alle planten behandeld met parathion en malathion in het centrum en in de jonge bladeren levende mijten hebben; bij Kelthane en Endrin blijken slechts enkele mijten in het centrum aanwezig te zijn, hoewel vele jonge bladeren nog levende mijten bevatten.

Demeton geeft in deze proef teleurstellende resultaten. De redenen hiervoor zijn niet bekend, vermoedelijk is een geringere gevoeligheid van de mijten voor dit middel de oorzaak.

Doordat een aantal nieuwe bladeren gedurende de tijdsduur van deze proef was gevormd, en deze in de behandelingen met

Kelthane en Endrin niet opnieuw waren geinfecteerd kunnen de tellingen, later dan 120 uur na de behandeling, onderling niet meer vergeleken worden.

Met de middelen Kethrane en Endrin werd een grotere veldproef opgezet. Uitvoering en controle waren dezelfde als eerder beschreven; voor de tellingen werden 40 planten per behandeling onderzocht. De resultaten van deze proef staan vermeld in tabel 3.

Ras : Jucunda

Spuitdatum : 28-8-1956

TABEL 3

	In centrum		Jong blad (b + c)	
	m.d.	m.l.	m.d.	m.l.
Telling 29/8				
Kelthane 0.25%	28	30	26	35
Endrin 0.1%	38	3	11	32
Onbehandeld	0	40	0	40
Telling 6/9				
Kelthane 0.25%	40	1	15	17
Endrin 0.1%	40	0	11	16
Onbehandeld	0	39	0	39
Telling 19/10				
Kelthane 0.25%	40	0	0	0
Endrin 0.1%	40	0	0	0
Onbehandeld	1	40	1	40

De resultaten van deze proef stemmen met die van de voorgaande volledig overeen. Ook hier kan met een enkelvoudige bespuiting met Kelthane 0.25% en Endrin 0.1% een volledige doding bereikt worden.

Dat met de telling van 6/9, dus 10 dagen na de behandeling in de jonge bladeren nog een aantal levende mijten wordt waargenomen is vermoedelijk te wijten aan de verminderde groeikracht van de aardbeiplanten; hierdoor zouden de mijten minder snel gedwongen worden de bladeren te verlaten.

5. De middelen Kethrane en Endrin

Kelthane bezit als werkzame stof 1.1-bis (chloorphenyl) 2,2,2-trichlooraethanol. Het is een gechloreerde koolwaterstof met een geringe giftigheid voor warmbloedigen. Op consumptie gewassen is in Nederland de toepassing toegestaan tot 2 weken

voor de oogst. Het werkt alleen als acaricide, en bezit dan zowel mijt- als eidodende eigenschappen. Over de werkingsduur tegen aardbeimijt konden nog geen gedetailleerde waarnemingen verricht worden, uit enkele veldwaarnemingen blijkt dat deze ongeveer 2 à 3 weken moet zijn.

Endrin bezit als werkzame stof 1,2,3,4,10-hexachloor-6,7-epoxy-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octohydro-1,4-5,8-endo-endo dimethaannaphthaleen. Het is dus ook een gechloreerde koolwaterstof, doch heeft een zeer grote giftigheid voor warmbloedigen. Het is een middel met een zeer brede werking, behalve tegen de genoemde aardbeimijt bezit het ook goede werking tegen insekten. Toepassing op consumptiegewassen is in Nederland nog niet toegestaan (1).

6. Samenvatting

De bestrijding van de aardbeimijt in bestaande productievelden is in vele landen reeds jarenlang onderwerp van onderzoek geweest. Hoewel middelen op basis van fosforzure esters enige werking vertoonden hebben deze in het algemeen in de praktijk geen ingang gevonden.

Bij het bestuderen van het gedrag van de mijten bleek dat deze in hoge mate preferentie vertonen voor de jonge nog niet ontvouwen blaadjes. Hierin worden de eieren gelegd en vindt de gehele ontwikkeling plaats. Zodra het blad geheel ontvouwen is, verlaten de mijten dit blad en gaan naar andere nog gevouwen bladeren of naar het centrum van de plant. Tussen de gevouwen bladeren vindt dan weer vermeerdering plaats, terwijl vanuit het centrum van de plant opnieuw infectie van de jonge bladeren kan plaats vinden.

Door de korte werkingsduur van fosforzure esters en mede mogelijk door een geringe gevoeligheid van de mijten voor dit middel, kan van een enkelvoudige bespuiting geen afdoende resultaat verwacht worden.

Middelen op basis van Endrin en Kelthane vertonen een veel langere werkingsduur. De mijten worden in de opgevouwen blaadjes niet gedood; zodra ze echter het blad bij het ontvouwen verlaten worden ze gedood door het residue op de bladstelen en in het centrum van de plant. Van een enkelvoudige bespuiting kan zodoende een goed resultaat verwacht worden.

Door de grote giftigheid van Endrin t.o.v. warmbloedigen is toepassing op consumptiegewassen nog niet toegestaan (1); bij de toepassing van Kelthane moet een termijn van 14 dagen in acht genomen worden tussen de laatste behandeling en de oogst.

(1) Na het inleveren van het manuscript bereikte ons het bericht dat toepassing van dit middel in productievelden na de oogst toegestaan is.

SUMMARY

Observations on the biology and control of the strawberry crown mite (*Tarsonemus pallidus Banks*) in production fields

The control of the strawberry crown mite in production fields has been the subject of research work in many countries. Though materials on the basis of phosphoric acid esters yielded some result, they were not generally introduced in practice.

In the study on the behaviour of the mites it appeared that they have a great preference for young not yet unfolded leaves and the centres of the plants. They deposit their eggs in these leaves, where the whole development takes place. As soon as the leaf is entirely unfolded, the mites leave it and go to other still unfolded leaves or to the centre of the plant. Again reproduction takes place inside the folded leaves, while the young leaves may again be infected from the centre of the plant.

Owing to the short action of phosphoric acid esters and, perhaps also to the slight susceptibility of the mites to those preparations, a single spraying cannot be expected to give satisfactory results.

Preparations on an Endrin and Kelthane basis have much longer action. These preparations, however, do not kill the mites as long as they are in the folded leaves, but as soon as they leave them they are killed by the residue on the plant. So a single treatment may here give good results. As Endrin is very poisonous to the warm-blooded type, it may not yet be applied in production fields. When Kelthane is used 14 days must elapse between the last treatment and the harvest.

LITERATUUR

DARROW, G. W. 1928. — The cyclamen mite (Tarsonemus pallidus) as a field pest of the strawberry plant. *U.S. Dept. Agric. Memo.* Nov. (1928).

HAHMANN, K. und MÜLLER, H. 1951. — Zum Auftreten und zur Bekämpfung der Erdbeermilbe. *Nachrichtenbl. d. Deutsch. Pfl. sch. D.* 1951; 3, 33-37.

MASSEE, A. M. 1930. — The Tarsonemid mite of strawberry. *J. Pom. Hort. Sci.* 8, 305-308.

MUNGER, F. 1933. — Investigations in the control of the cyclamen mite (Tarsonemus pallidus Banks). *Minnesota Agr. Exp. Sta. Techn. Bull.* 93, 20 pp.

SMITH, L. M. and GOLDSMITH E. V. 1936. — The cyclamen mite, Tarsonemus pallidus, and its control on field strawberries. *Hilgardia,* 10, 3, 53-94.

WIESMANN, R. 1937. — Untersuchungen über die Biologie und Bekämpfung der Erdbeermilbe, Tarsonemus pallidus (fragariae Z.) Banks. *Landw. Jahrb. Schweiz,* 55, 3, 259-329.

Fig. 1. — Aardbeiplanten, onbehandeld.

Strawberry plants, untreated.

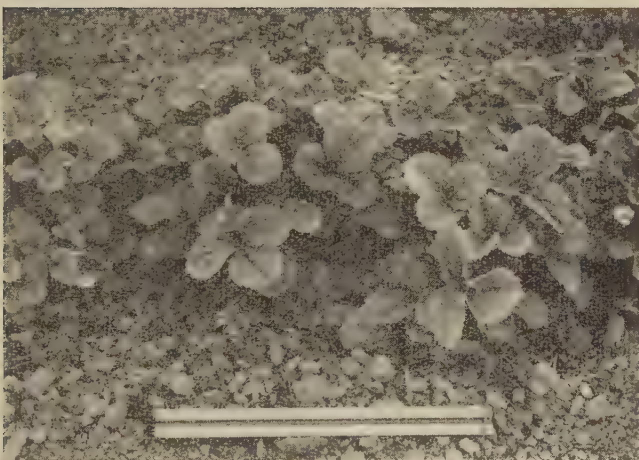


Fig. 2. — Aardbeiplanten van hetzelfde veld als fig. 1.
Behandeld op 28-8-1956 met Kelthane 0.25%.

*Strawberry plants from the same field as fig. 1.
Treated with Kelthane w.p. 0.25% on August 28th 1956.*

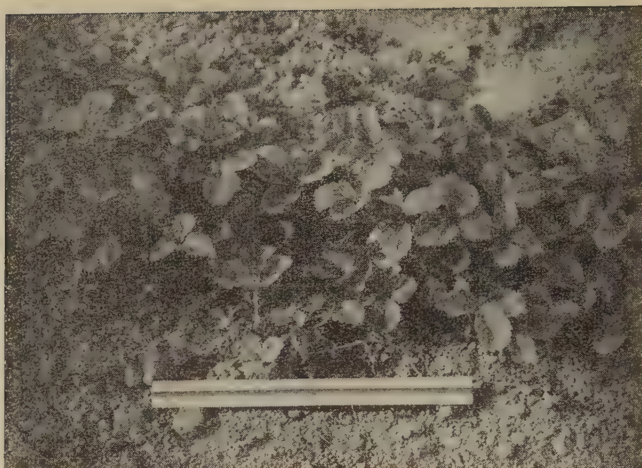


Fig. 3. — Aardbeiplanten van hetzelfde veld als fig. 1.
Behandeld op 28-8-1956 met 0.1 % Endrin.

Strawberry plants from the same field as fig. 1.
Treated with Endrin 0.1% August 28th 1956.

Alle foto's genomen op 27-9-1956.

All photo's taken on September 27th 1956.

ESSAIS D'INTOXICATION DU PETIT CAMPAGNOL AU COUMAFENE ET A LA SCILLE

par

J. Bernard

Station d'Entomologie de l'Etat. Gembloux.

I. Introduction

A l'heure actuelle, une série importante de publications a montré la valeur des dérivés de la coumarine dans la lutte contre les rongeurs domestiques. Ces travaux ont permis de se rendre compte que la sensibilité à ce poison varie très fort suivant les espèces animales.

Ces produits, qui agissent en inhibant la formation de la prothrombine à partir du foie, sont d'autant plus efficaces que le rapport: volume du sang/poids du corps, pour l'espèce de mammifère considérée est peu élevé. Celui-ci est particulièrement bas chez les espèces de rongeurs appartenant au genre *Rattus*. Il est plus élevé chez d'autres.

La lutte contre le petit campagnol, *Microtus arvalis* Pall. pose des problèmes de protection d'autres espèces animales vivant dans le même biotope. Ceux-ci seraient grandement simplifiés par l'utilisation de produits toxiques spécifiques pour les rongeurs, tels que les dérivés de la coumarine. La première des choses à faire, était de déterminer la sensibilité de l'espèce vis-à-vis du produit.

II. Protocole expérimental

Nous avons utilisé un produit commercial à base de coumafène ou 3-(1 phényl-2 acétyléthyl) 4 hydroxycoumarine. La préparation contenait 0,5% de ce produit de base et a été employée à raison de 5% en mélange avec un appât. Il y a donc finalement 0,025% de matière active (M.A.) dans l'aliment ingéré par le rongeur.

Deux types d'appâts ont été utilisés. Lors du premier essai, les animaux ont reçu de l'avoine aplatie enrobée de poudre à base de coumafène. Dans le second, nous leur avons présenté un appât à base de farine préparé de la façon suivante : le mélange produit commercial et farine a été humidifié par l'incorporation de 5%

d'eau de façon à former une pâte. Celle-ci a été modelée en boulettes qui ont été abandonnées à la dessiccation à l'air libre jusqu'au retour au poids initial du mélange. L'incorporation de la poudre a été effectuée au moyen d'un appareil automatique. Il en a été de même lors de la préparation des appâts à base d'avoine aplatie lors du premier essai.

Les animaux en expérience étaient tous des mâles d'âge connu (premier essai : de 37 à 65 jours; second essai : de 75 à 200 jours). Le mélange leur était présenté dans un bac en zinc de 15 cm de côté et de 5 cm de profondeur, de façon à éviter les pertes. Pendant toute la durée de l'essai, les animaux ont été maintenus dans des cages en treillis métallique de 25 × 25 × 20 cm, placées dans une serre chauffée à une température de 18 à 20 degrés centigrades. Aucune litière ne leur était donnée pour éviter les salissages.

L'appât était offert aux animaux en expérience tous les matins, à raison de cinq grammes pour ce qui concerne le mélange avoine-coumafène, à raison d'environ dix grammes, pesés au centième de gramme près, pour ce qui concerne le mélange de farine et de toxique. Le jour suivant, après 24 heures, les restes d'appât non consommés étaient retirés et pesés, puis remplacés par une nouvelle quantité du mélange rodenticide.

Dans le premier essai (appât constitué d'avoine), nous avons soumis à l'expérience quatre groupes de 3 animaux, nourris respectivement pendant : 1, 2, 3 et 4 jours avec le produit. Dans le second cas, il y eut cinq groupes de 5 campagnols, nourris respectivement pendant : 1, 2, 3, 4 et 5 jours avec le mélange. Un sixième lot était constitué de 5 animaux destinés à subir l'intoxication au coumafène jusqu'à ce que mort s'ensuive.

Dans les deux cas, le témoin était constitué d'un lot de rongeurs équivalent à celui en expérience. Les témoins furent nourris exactement de la même manière que les rongeurs de l'essai, le toxique en moins bien entendu; il en fut de même pour les individus ayant dépassé la période d'administration de la préparation toxique. Tous les animaux disposaient d'eau à satiété.

L'observation des symptômes et le relevé des morts se faisait chaque matin au moment du changement de nourriture. Les cadavres trouvés étaient pesés et autopsiés. L'expérience a été clôturée après un mois, les survivants étant sacrifiés et disséqués.

III. Résultats

Essai N° 1 : Appât constitué d'avoine aplatie

Les résultats de ce premier essai sont repris au Tableau 1.

Ce tableau montre la très grande variation de résistance individuelle du campagnol des champs au coumafène. Un animal a été tué par 44,61 mg de M.A. par kilo de poids vif, alors qu'un

autre résistait à une dose 4,7 fois plus élevée (209,8 mg). Si l'on compare les doses moyennes absorbées par les animaux qui ont résisté avec celles ingérées par ceux qui ont succombé, on voit qu'elles ne présentent aucune différence valable : 107,75 mg contre 114,83 mg (variances : 2.839,04 et 2.466).

Toutefois l'examen critique des résultats et l'autopsie des animaux ayant servi à l'essai nous ont permis les constatations suivantes.

TABLEAU 1

Résultats de l'essai effectué avec l'avoine aplatie

Animal N°	Age Jours	Poids initial (g)	Consommation d'appât : (g)				Quantité de matière active (M.A.) ingérée	
			1er jour	2e jour	3e jour	4e jour	réelle (mg)	mg/kg de poids vif
C 5	64	21,26	3,—	—	—	—	0,75	35,28
C 2	37	16,72	2,07	—	—	—	0,52	30,95
C 3	47	18,02	3,44	—	—	—	0,86	[44,61]
C 4	64	19,37	3,45	3,70	—	—	1,79	92,28
C 5	47	17,24	2,4	3,48	—	—	1,47	85,26
C 6	37	15,6	3,42	3,63	—	—	1,76	112,98
C 7	64	22,64	3,45	3,62	2,67	—	2,43	107,55
C 8	45	18,20	4,13	2,70	3,39	—	2,55	140,38
C 9	37	15,87	2,85	3,70	3,54	—	2,52	155,20
C 10	64	21,87	2,35	3,45	3,70	3,50	3,25	[148,60]
C 11	37	15,87	3,40	3,49	3,40	3,03	3,33	[209,80]
C 12	45	16,69	3,94	3,65	3,70	0,62	2,98	[151,30]

Les doses ayant entraîné la mort de l'animal sont encadrées.
Aucun des témoins n'a succombé pendant l'essai.

L'animal ayant succombé à la faible dose de coumafène (C 3) montrait un épanchement de sang dans toute la cavité gastro-intestinale. Or le coecum de ce campagnol renfermait 56 *Syphaecia obvelata* Rudolphi. Ce petit *Oxyuridae* n'est en général pas considéré comme pathogène, mais il n'est pas exclu que les petites lésions qu'il provoque aux parois intestinales ne soient suffisantes pour entraîner une hémorragie fatale dans un cas d'hypothrombinémie.

Si cette hypothèse est admise, on peut écarter le résultat fourni par l'animal C 3. On constate dès lors que la dose moyenne ayant provoqué la mort est de 149,95 mg par kilo de poids vif. Ceci porte la différence entre les doses moyennes auxquelles les rongeurs ont résisté et celles auxquelles ils ont succombé à 42,2 mg/kg. Si l'on soumet ces résultats à un test, on obtient pour

TABLEAU 2

Essai nº 2 — Appât constitué de farine en pâtons

Campagnols nourris avec l'appât pendant :	Animal Nº	Age Jours	Poids initial g	Consommation d'appât (g) 1er jour	2e jour	3e jour	4e jour	5e jour	6e jour	7e jour	Consommation totale de coumafène Réelle (mg)	En mg/kg poids vif
1 jour	C 1	164	30,61	2,75	—	—	—	—	—	—	0,69	22,50
	C 2	129	24,05	3,30	—	—	—	—	—	—	0,82	34,00
	C 3	103	16,55	3,42	—	—	—	—	—	—	0,85	51,10
	C 4	97	18,68	4,05	—	—	—	—	—	—	1,013	54,20
	C 5	77	20,38	4,15	—	—	—	—	—	—	1,038	50,90
2 jours	C 6	184	22,87	3,5	3,5	—	—	—	—	—	1,90	76,18
	C 7	142	26,38	3,85	3,7	—	—	—	—	—	1,89	72,00
	C 8	115	22,08	1,60	1,80	+	—	—	—	—	0,85	38,02
	C 9	97	21,60	2,9	3,3	+	—	—	—	—	1,55	71,70
	C 10	77	15,93	4,0	4,25	—	—	—	—	—	2,062	129,40
3 jours	C 11	184	21,77	4,17	4,50	2,60	+	—	—	—	2,818	130,00
	C 12	142	19,80	4,10	0,45	+	—	—	—	—	1,108	57,70
	C 13	110	14,32	2,95	2,95	3,20	+	—	—	—	2,275	158,80
	C 14	94	20,70	3,05	2,85	0,10	+	—	—	—	1,500	72,40
	C 15	87	15,77	2,95	2,73	2,13	+	—	—	—	1,953	123,70
4 jours	C 16	152	22,22	4,68	4,10	3,85	0,40	+	—	—	3,258	146,60
	C 17	135	20,85	2,85	3,00	3,40	0,20	+	—	—	2,363	113,30
	C 18	110	15,92	3,10	3,10	3,35	1,05	+	—	—	2,65	166,40
	C 19	92	17,82	3,20	2,85	0,50	+	—	—	—	1,638	91,90
	C 20	87	20,02	4,05	3,60	1,35	+	—	—	—	2,250	112,30
5 jours	C 21	153	26,75	4,60	4,05	0,70	+	—	—	—	2,338	87,40
	C 22	134	23,37	3,70	3,60	2,80	0,15	—	—	—	2,563	109,70
	C 23	100	15,72	3,42	3,20	0,00	+	—	—	—	1,655	105,20
	C 24	92	18,47	3,40	2,65	0,05	+	—	—	—	1,525	82,50
	C 25	77	17,47	3,67	2,30	1,60	0,15	+	—	—	1,930	110,40
Jusqu'à la mort	C 26	196	30,62	3,65	2,86	3,15	2,95	0,15	0,05	0,20+	3,213	104,90
	C 27	134	25,05	3,90	3,25	1,55	0,20	+	—	—	2,225	88,80
	C 28	97	17,30	2,47	2,80	0,15	+	—	—	—	1,355	78,30
	C 29	94	13,10	3,20	2,55	2,30	2,05	1,80	1,55	0,05+	3,375	257,80
	C 30	79	15,12	3,35	2,90	1,25	+	—	—	—	1,875	124,00

celui-ci une valeur de 3,07 alors que le seuil de signification à 5% est 2,26. La différence entre les deux doses moyennes est donc significative.

Ce premier essai nous a en outre permis de faire quelques observations intéressantes sur les symptômes de l'hypothrombinémie chez *M. arvalis.*

Les deux animaux qui ont succombé ont eu un comportement différent pendant la période qui a précédé leur décès. Alors que le nº C 10 fut trouvé mort un matin sans avoir manifesté aucun comportement anormal, le nº C 12 a présenté des symptômes morbides pendant les 48 heures qui ont précédé la mort; entr'autre une tachycardie très forte et des mouvements désordonnés. Il y eut ensuite au cours des dernières heures avant la mort, paralysie des membres postérieurs et prostration entrecoupée de violents spasmes thoraciques et abdominaux. L'animal semblait aussi éprouver de grosses difficultés à respirer. Il est intéressant de noter que deux animaux ont présenté des symptômes faisant présumer une issue fatale, mais qu'ils se sont parfaitement rétablis après quelques jours. Chez l'un d'entre eux, nous avons observé la formation d'une véritable poche sous-cutanée remplie de sang, provoquée par une hémorragie dans la région thyroïdienne. Mais celle-ci s'est résorbée en trois jours. Lors du sacrifice qui eut lieu un mois après le traitement, il ne restait dans la région que quelques vagues traces d'hématome.

Chez un autre campagnol ayant survécu, on a observé des symptômes similaires à ceux qui ont précédé la mort des victimes, c'est-à-dire de la prostration, des spasmes et de la tachycardie. Lors de l'apparition de ces symptômes, l'animal avait ingurgité une dose de coumafène correspondant à 209,80 mg par kg de poids vif, soit la plus forte dose observée dans cet essai. L'animal était redevenu normal après 5 jours. Lors du sacrifice, 21 jours plus tard, nous n'avons pas pu découvrir la moindre trace de lésion.

Essai Nº 2 : Appât constitué de farine agglomérée

Les résultats sont repris au tableau nº 2. Celui-ci montre que la variance des doses mortelles reste très élevée. La dose létale moyenne est de 110,23 mg par kg de poids vif, avec un minimum de 38,2 et un maximum de 257,8 mg ce qui donne une valeur de 2.040,30 à la variance. Ce dernier chiffre est pratiquement aussi élevé que celui du premier essai, en considérant tous les résultats. Les moyennes sont d'ailleurs très voisines également (114,83 dans la première expérience). Toutefois il existe ici une différence significative entre les doses absorbées par les sujets résistants et par ceux qui sont morts (Tableau 3).

TABLEAU 3

Comparaison des doses moyennes ingérées par les animaux qui sont morts et par ceux qui ont survécu

	Animaux morts	Animaux survivants		
Dose moyenne absorbée	110,23	62,26	Différence	47,97
Nombre d'observations	22	8	Total	30
σ^2	2.040,30	965,38		
σ	45,2	31,4		
$\sigma^2 E$		213,4		
σE		14,59		
$2{,}51\sigma E$	36,62 plus petit que 47,97, significatif au niveau 1%			

Ce qui distingue donc essentiellement cet essai du précédent ce ne sont pas les doses auxquelles les animaux ont succombé mais bien celles auxquelles ils ont résisté. Alors qu'en mélange avec de l'avoine, les campagnols résistaient à une dose moyenne de 107,75 avec un maximum de 209,8 mg par kg de poids vif (variance de 2.839,04), en mélange avec de la farine agglutinée, la dose moyenne de résistance est de 62,26 mg/kg avec un maximum de 129,4 g (variance : 965,38). La différence n'est toutefois pas significative.

Dans ce second essai, sur 30 animaux mis en expérience, 22 sont morts des suites de l'absorption de coumafène. Les cinq campagnols n'ayant été nourris qu'un seul jour avec l'appât empoisonné ont tous résisté. Ils ont avalé entre 22,5 et 50,9 mg de coumafène par kg de poids vif (M. = 42,62 mg). Parmi ceux qui ont été nourris pendant deux jours avec l'appât, deux sont morts après absorption, respectivement de 38,2 et 71,7 mg/kg du toxique, et trois ont résisté à des doses de 72,0 — 76,18 et 129,4 mg/kg. Enfin, les animaux qui ont été nourris trois, quatre et jusqu'à sept jours avec l'appât, sont tous morts.

IV. Discussion

Devant les résultats de ces essais, on peut se poser quelques questions et tirer certaines conclusions d'ordre biologique. Les principales sont à notre avis les suivantes :

a) **Différence de résistance entre les rats et le campagnol des champs**

En se référant au travail de Lhoste et Leibovici (4) on connaît les doses létales moyennes pour rats albinos mâles. Ces auteurs ont nourri 27 rats albinos pendant des durées variables avec de la farine mélangée de coumafène; quinze d'entre eux ont succombé à des doses allant de 21 à 50 mg/kg de poids vif. La dose létale moyenne est de 38 mg. Si l'on compare ces résultats avec les nôtres, on constate qu'il y a une différence hautement significative entre la dose létale moyenne pour campagnol et pour rat blanc.

Dans ce dernier cas nous n'avons pas pu utiliser le test t, étant donné le très grand écart existant entre les variances des deux résultats. En applicant la méthode de Behrens d'après les tables de Fisher et Yates (3), nous obtenons une valeur d'environ 28,0 au niveau de signification de 1%, qui est de loin inférieure à la différence entre les deux moyennes qui est de 72,23.

D'autre part, E. W. Bentley et al. ont établi ce même type de données pour des *Rattus norvegicus* Erxl. sauvages et pour *Rattus rattus L.* (3 et 2). Pour la première espèce les doses létales, avec un appât contenant 0,025% de matière active, varient de 12 à 78 mg/kg de poids vif. Pour la seconde, les doses mortelles ingérées sont en moyenne de 102 mg/kg.

Il semble donc que le campagnol des champs soit plus résistant à l'action du coumafène que les deux formes de *R. norvegicus* et que sa résistance soit comparable à celle du rat noir.

b) **Corrélation entre l'âge de l'animal et la dose nécessaire pour le tuer**

Dans notre essai, l'âge des campagnols se situait entre 75 et 200 jours. On peut se demander si la résistance de l'animal à l'intoxication n'est pas fonction de l'âge. Il suffit pour s'en rendre compte d'établir le coefficient de corrélation r entre ces deux données. La valeur trouvée ici est inférieure à 0,1; ceci montre qu'il n'y a, dans la gamme d'âge des campagnols que nous avons utilisés, absolument aucune relation entre cet âge et la résistance à la coumafène.

c) **Corrélation entre le poids de l'animal et la résistance au toxique**

Le fait d'exprimer la dose létale en mg de toxique par kg de poids vif de l'animal en expérience, élimine justement l'influence que pourrait avoir le poids de l'animal sur son appétit, partant sur la dose de toxique ingérée. Toutefois l'on peut admettre que,

indépendamment de cette question d'appétit, une relation puisse exister entre la résistance de l'animal à un toxique donné et son poids, en tant que celui-ci est l'expression chiffrée de toute une série d'autres critères physico-physiologiques dont le détail ne nous est pas connu. Signalons toutefois que le poids est fonction de l'âge pendant la première période de l'existence de l'animal; nous venons de voir qu'il n'y a aucune relation entre ce facteur et la dose létale. Nous avons établi la valeur du coefficient de corrélation entre le poids initial des campagnols et la dose de toxique, en mg par kg de poids vif, exigée pour entraîner la mort de l'animal. La valeur trouvée dans ce cas est de beaucoup supérieure à celle trouvée dans le cas précédent. Le coefficient de corrélation r est ici de — 0,33. Le seuil de signification au niveau 5% pour 22 degrés de liberté est de 0,404. Le coefficient trouvé n'est donc pas significativement différent de zéro. Remarquons toutefois qu'il se rapproche très fort de la valeur limite.

Bentley et Rowe (2) ont établi qu'il existe une corrélation négative entre la résistance du rat noir *R. rattus* au pival et au coumafène et le poids des individus en expérience.

Les individus les plus légers résistent mieux à ces anticoagulants que les individus plus lourds.

d) **Délai de survie des animaux ayant succombé**

Sur les 30 animaux en expérience, 22 ont succombé. Le rythme des mortalités a été :

3,	soit 13,63%	sont morts après	3 jours
11,	soit 50%	,, ,, ,,	4 ,,
6,	soit 27,27%	,, ,, ,,	5 ,,
2,	soit 9,09%	,, ,, ,,	7 ,,

La moyenne de survie est donc de 4,4 jours après l'ingestion des premiers milligrammes de toxique. D'après la littérature nous savons que les rats blancs meurent en moyenne 6,27 jours après le début de la consommation du coumafène (Lhoste et Leibovici 4). Les *Rattus norvegicus* sauvages résistent de 6,2 à 6,6 jours et les *Rattus rattus* 8,8 jours en moyenne (Bentley et al. 1-2). Le campagnol des champs meurt donc nettement plus rapidement que ces Murinae.

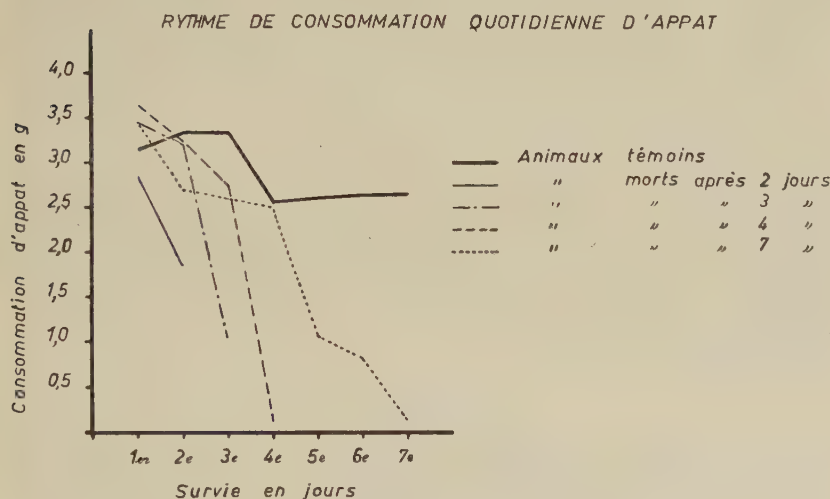
Il y a une relation entre la quantité de toxique ingérée et le délai de survie; les animaux plus résistants ont continué à se nourrir de l'appât empoisonné et ont donc consommé davantage que les individus sensibles.

e) **Corrélation entre la survie et le rythme de consommation**

Tous les auteurs ayant étudié l'action des dérivés de la coumarine sur les rongeurs ont constaté que ceux-ci sont essentiellement

des poisons chroniques et qu'une forte dose ingérée en une seule fois est beaucoup moins toxique que des doses plus faibles absorbées par petites quantités. L'explication généralement admise est qu'une dose massive n'altère pas la microflore intestinale, grosse productrice de vitamine K, alors que des doses faibles mais répétées entraînent sa disparition. Nous nous sommes donc demandés s'il n'y avait pas une certaine relation entre le rythme de consommation de l'appât et la survie des animaux en expérience; en d'autres mots, si la plus grande résistance de certains animaux ne peut pas s'expliquer par une consommation trop importante de toxique le premier jour.

Le graphique n° 1 permet de se rendre compte que cette hypothèse est sans le moindre fondement.



GRAPHIQUE 1

Il permet de se rendre compte que les doses ingérées le premier jour ont été sensiblement égales dans tous les cas. On ne peut donc pas conclure à une incidence de la consommation initiale d'appât sur la survie, partant sur la résistance au toxique.

Ce graphique suggère toutefois quelques autres conclusions :

1° La consommation de l'appât empoisonné entraîne dès le lendemain une légère dépression de l'appétit. Celle-ci ira en s'accentuant, et ce d'autant plus vite que l'animal est moins résistant au poison.

2° Quelle que soit la résistance au toxique, une chute brutale de l'appétit se manifeste la veille de la mort. Un des symptômes de l'intoxication paraît donc être une diminution de l'appétit.

f) Les symptômes

Nous avons vu dans le premier essai que les animaux atteints d'hypothrombinémie présentent quelquefois des symptômes morbides avant la mort. Dans la seconde expérience, certains animaux ont aussi présenté un syndrome pathologique alors que d'autres conservaient un comportement normal jusqu'à la mort. Les éléments de ce syndrome sont comme dans le premier essai, de la tachycardie, de la somnolence entrecoupée de mouvements désordonnés et une tendance à la chute latérale. De plus nous avons observé que dans certains cas le poil était hérissé, que l'animal témoignait d'une soif très forte et de tremblements séniles de la tête; enfin certains campagnols montraient une tendance à se tenir le dos voûté. Dans un cas on a observé des saignements spontanés au niveau des narines et du pénis. Signalons enfin que certains animaux présentent du stéréotropisme avant de mourir car on trouve souvent les cadavres coincés sous le bac ou l'abreuvoir, ou entre ceux-ci et les parois de la cage.

L'examen superficiel des cadavres montre dans certains cas des hématomes sous cutanés (10 cas sur 22). Ces hématomes sont principalement localisés à la région thoracique et à la face intérieure des membres antérieurs (8 cas sur dix); on en trouve également dans la région dorsale (3 cas sur 10), aux pattes postérieures (2 cas sur 10), au cou et sur tout le corps (1 cas sur 10 pour chacun de ces endroits). Quatre des dix individus en portaient dans 2 de ces régions à la fois.

TABLEAU 4

Principales lésions internes observées chez les campagnols ayant succombé à l'action de la coumafène

Lésion	Nombre de cas observés (sur les 22 cadavres))
Hémorragie interstomacale	16
,, du duodénum	12
,, de la cavité thoracique	13
,, de la vessie	1
,, des reins	1
,, de la cavité abdominale	2
,, du gros intestin	1
,, sous-cutanée : thoracique	3
,, ,, abdominale	1
,, ,, du cou	1
Taches sur les poumons	11
Foie décoloré	6
Reins exsangues	1
Estomac vide	7
Intestin vide	5

A l'autopsie, nous avons découvert l'hémorragie qui avait déterminé la mort de l'animal dans 21 cas sur les 22 cadavres disséqués. La localisation anatomique de ces lésions est reprise dans le Tableau 4. Celui-ci montre que les hémorragies fatales sont surtout localisées à l'estomac, au duodénum et dans la cage thoracique. Un autre traumatisme courant est constitué par un épanchement intrapulmonaire de sang, provoquant sur cet organe l'apparition de taches rouges. La vingt-deuxième victime ne présentait que ce seul symptôme.

Certains animaux cumulent plusieurs de ces lésions internes. Par exemple la plupart des hémorragies du duodénum s'étendaient à l'estomac. Un campagnol présentait six des symtômes.

En général le poids des campagnols accusait une diminution de un ou deux grammes après la mort. Dans quelques cas la chute de poids a atteint de 30 à 40% du poids initial. Ces amaigrissements importants s'observent chez les campagnols particulièrement résistants. Nous avons vu plus haut qu'au cours des derniers jours ils cessent pratiquement de se nourrir. Ce sont ces animaux dont l'estomac et l'intestin se sont révélés vides à l'autopsie.

V. Essais avec la scille

La scille, dont les propriétés raticides sont connues des Arabes depuis le XIII[e] siècle, présentait les mêmes avantages de relative spécificité que les dérivés de la coumarine.

Lors de nos essais de 1949, pendant la grande multiplication de campagnols, nous avions essayé la scille en plein champs sans beaucoup de succès. Les rongeurs ne semblaient pas apprécier l'appât mis à leur disposition.

Il y a quelques années est apparu sur le marché de la scille à incorporer à un appât quelconque. Nous avons essayé ce produit en mélange avec de l'avoine aplatie. En sept jours les animaux en expérience sont tous morts de faim. Aucun d'entre eux n'avait touché au mélange. Leur poids avait diminué d'environ 50% en moyenne et à l'autopsie les estomacs et intestins étaient tous vides. L'inanition ne fait aucun doute.

Par contre ce même produit essayé dans les mêmes conditions sur la forme sauvage de la souris domestique s'est révélé très efficace.

Il s'agit donc bien d'un manque total d'appétence du campagnol pour la scille.

VI Conclusions

Le campagnol des champs, *Microtus arvalis* Pall. s'avère donc plus résistant au coumafène que le rat gris, *Rattus norvegicus L.*, tant dans sa forme albinos que dans sa forme sauvage. La sensibilité

du Microtinae que nous avons étudié est à peu près similaire à celle du rat noir : *Rattus rattus*. Il faut remarquer toutefois que dès que la dose ingérée est suffisante pour déterminer une issue fatale, celle-ci survient plus rapidement que chez les Murinae.

A l'heure actuelle il paraît difficile de déterminer quelles sont les causes de la résistance individuelle des campagnols à ce toxique. L'âge ne paraît pas intervenir; tout au plus une relation inverse semble exister entre le poids de l'animal et la dose qui est nécessaire pour déterminer sa mort.

Chez *Microtus arvalis*, dans de nombreux cas, la mort est précédée de symptômes plus ou moins graves. Les hémorragies fatales les plus courantes sont localisées à l'estomac, au duodénum ou dans la cavité thoracique.

La scille ne peut être utilisée contre le petit campagnol car elle paraît répulsive. Les animaux dont le seul régime est constitué d'un appât mélangé de ce raticide, se laissent mourir de faim.

BIBLIOGRAPHIE

1. BENTLEY, E. W., L. E. HAMMOND and E. J. TAYLOR (1955). — The relative toxicity of 0,025 per cent and 0,005 per cent Warfarine to *Rattus Norvegicus*. *Plant Pathology*. Vol. 4, n° 4, pp. 120-123.
2. BENTLEY, E. W., and M. ROWE (1956). — Pival an anti-coagulant rodenticide. *The Journal of Hygiene*. Vol. 54, n° 1, pp. 20-27.
3. FISHER, R. A. et F. YATES (1943). — Statistical tables for Biological, Agricultural and Medical Research. Londres — Oliver et Boyd.
4. LHOSTE, J. et C. LEIBOVICI (1952). — Contribution à l'étude du Warfarine, raticide nouveau. *Parasitica* Tome VIII, n° 4, pp. 143-149.

Prof. W. E. Van den Bruel, Gembloux

V : Que pensez-vous des possibilités d'utilisation du coumafène contre le petit campagnol?

A : Tout dépend de l'appât que l'on pourra offrir au rongeur avec le poison.

V : Pensez-vous que l'on puisse utiliser les dérivés de la coumarine comme poison de piste?

A : A mon avis une telle utilisation s'avère difficile en plein air. Un essai entrepris il y a quelques années s'est soldé par un échec.

SAWFLIES AS PESTS IN FRUIT PLANTATIONS IN GREAT BRITAIN

by

Herbert W. Miles

(Wye College, University of London)

Observations over many years have shown that sawflies representing at least twelve genera are found in Great Britain. Some species are leaf-feeders and are of little consequence except when they are epidemic. Others infest the fruit and either destroy it entirely or greatly reduce its market value. In some species there is only a single generation with larvae of a leaf green colour easily overlooked on the tree or bush; other species have several generations in the year, have conspicuous larvae and are frequently recorded. Several species have additional hosts among wild plants and constantly reinfest fruit plantations from these outside sources, and at least one species feeds mainly on weeds and is only incidentally and occasionally a pest of apples.

The genera concerned and the host plants

The genera of sawflies whose larvae are injurious are as follows and the host plants are given in brackets :

Emphytus Klug.	(Fragaria)
Ametastegia A. Costa	(Rumex)
Empria Lepeletier	(Rubus)
Blennocampa Hartig.	(Fragaria and Spiraea)
Entodecta Konow.	(Rubus)
Caliroa O. Costa	(Pyrus, Prunus)
Cladius Rossi.	(Fragaria)
Priophorus Dahlbom.	(Prunus)
Hoplocampa Hartig.	(Prunus, Pyrus, Malus)
Nematus Panzer.	(Prunus and Crataegus)
Pteronidea Rohwer.	(Ribes)
Micronematus Konow.	(Prunus and Pyrus)
Pristiphora Latreille.	(Ribes)

Species representative of these genera occur widely over Europe and therefore some examples are likely to be met with in Western Europe wherever fruit is grown in commercial quantities and particularly when berry fruits form an under crop in young plantations of tree fruits.

The important sawfly species that occur on commercial fruits in Great Britain are as follows :

Apple	*Hoplocampa testudinea* Klug.
	Ametastegia glabrata F.
Pear	*Hoplocampa brevis* Klug.
	Caliroa limacina Retz.
	Micronematus abbreviatus Hartig.
Cherry and Plum	*Hoplocampa flava* L.
	H. chrysorrhoea Kl.
	H. rutilicornis Kl.
	Caliroa limacina Retz.
	Priophorus padi L. (*varipes* Lep.)
	Nematus lucidus Panz.
Gooseberry & Red Currant	*Pteronidea ribesii* Scop.
	P. leucotrocha Htg.
	Pristiphora pallipes Lep.
Black Currant	*Pteronidea olfaciens* Benson
Raspberry	*Empria tridens* Konow.
	Entodecta pumila Klug.
	Emphytus rufocinctus Retz.
Strawberry	*Emphytus cinctus* L.
	Empria liturata Gmel.
	Blennocampa geniculata Htg.
	Cladius pectinicornis Geoff.

The species of *Hoplocampa* are the only fructivorous sawflies in this list though the larvae of *Caliroa* in cases of heavy infestation, will damage the skin of young pear fruits and the larvae of *Pteronidea* will bite into young gooseberries. The remaining species are all leaf eaters. The economic status of *Ametastegia glabrata* appears to be unique. When the larva devours the foliage of Rumex and other weeds it is beneficial, but, in autumn, when the fully grown larva burrows into the apple to form a hibernaculum it injures the fruit and so becomes a pest.

The Sawflies of Tree Fruits

As the Hoplocampid sawflies are specifically fructivorous they must be univoltine for there is only one crop of fruit each year on their host plants. The imagines have their flight period at the time of blossoming of the host plants and in all the species studied both sexes are abundant and parthenogenesis has not been recorded. The imagines feed on pollen and nectar and may be seen in copula on the blossom trusses. Oviposition takes place when the flowers are in bud; the ova are inserted into the calyx of *Prunus* or the receptacle of *Pyrus* and *Malus* and incubation takes 8-12 days under English conditions. In order to survive the larvae of *Hoplocampa flava* and *H. rutilicornis* must hatch before the dehiscence of the calyx so earliness in hatching is an advantage. The larvae of *H. brevis* and *H. testudinea* hatching from eggs laid in the receptacle do not have this hazard and late oviposition sometimes results in heavy infestation of fruitlets. Infestation by *Hoplocampa*

spp. is often very variable on fruit trees in plantations as it depends on the weather during the period of oviposition of the sawflies.

In all species of *Hoplocampa* observed in Great Britain several fruits may be injured by one larva but the natural mortality among larvae is often high. Infested fruits fall off readily in years of good pollination and heavy fruit set and losses may be quite insignificant, but in years of poor fruit set the losses caused to apples, pears and plums are important.

The larvae reach maturity in three to four weeks, then leave the fruits and make their cocoons in the soil. The insects remain as pre-pupae until spring and transform into pupae about three weeks before the emergence of the imagines.

Eclosion takes place in early spring to coincide with the separation of the individual blossom buds from the inflorescence of the host plants. A small proportion of pre-pupae may continue in diapause for a further year as has been shown with *H. flava* and *H. testudinea.*

Control by the use of y-BHC at petal fall is effective but work at East Malling (1) has shown that it is extremely difficult to relate the degree of control of apple sawfly with the amount of crop increase, just as it is almost impossible to relate yield with level of infestation where no spraying has been done.

Leaf-eating species of sawflies on tree fruits are mainly important in nurseries though heavy infestation by *Caliroa* may occur on espalier trained trees. In Britain there are sometimes two generations in the summer but on the Continent of Europe there are usually two generations. The species appears to be prolific and few parasites are recorded. *Nematus lucidus* Panz is a univoltine species, the imagines fly in spring at blossoming time and the comparatively large smooth green larvae devour the foliage of plums and damsons eating at the edges of the leaves. *Priophorus padi* L. infests Prunus species. There are usually two generations in the year, the larvae are green or greyish and bristly and feed largely on the undersides of the leaves. *Micronematus abbreviatus* Htg is comparatively rare in Britain. This species, and others related to it, may be much more common and important in Europe and indeed the writings of continental hymenopterists like Konow and Enslin support this view.

I have already referred to *Ametastegia glabrata* F. a species that has become increasingly important in Great Britain with the increase in grass culture as distinct from arable culture, in fruit plantations. This sawfly feeds on species of rumex and plantago and as these weeds, when growing around the bases of the tree trunks, are missed by the mowing machines the greatest numbers

---

(1) E. M. R. S. Ann. Rept. 1954, p. 107 (Barlow, Dicker and Briggs).

of larvae develop close to the trees. There are two generations in the summer and whilst the fully-fed larvae of the first find the bases of the old stems of rumex suited to the short term needs of pupation at that time of the year, the second generation disperse far more widely and many larvae climb the trees and tunnel into the fruits. The fruits prove to be quite unsuitable for the hibernacula and so the larvae leave them or perish in the fruit juice. Most of the injured fruits rot from the point of injury and so represent a loss to the grower. Applications of D.D.T. or B.H.C. sprayed under the trees will give control of the insect but it seems better to dig out and remove the host plants during the winter of the second year in grass or suppress the plants by the use of a type of mower that cuts closely right up to the tree trunks.

The Sawflies of Berry Fruits

The species of sawflies that attack the berry fruit crops are without exception leaf-devourers and the most serious effects of their attacks occur in the nurseries and during the first year of growth in the cropping site. Almost all species have several generations in the summer, the laggard larvae being still present in September. The continued defoliation retards the development of the plants in the nursery and delays the establishment in the plantation.

Three species attack gooseberry; *Pteronidea ribesii* Scop. and *Pt. leucotrocha* Htg. in which the larvae are conspicuously spotted and bristly and *Pristiphora pallipes* Lep. with pale green unspotted larvae. The larvae of *Pt. ribesii* are well known to most entomologists but those of *Pt. leucotrochus* are probably overlooked because of their close resemblance to *Pt. ribesii*. They are distinguished by the smaller and more uniform spotting of the segments. *Pristiphora pallipes* may have as many as four generations of larvae in the year, the species produces females by parthenogenesis and males are very rare in Great Britain. *Pteronidea ribesii, Pt. leucotrocha* and *Pt. olfaciens* may all reproduce parthenogenetically but produce males by this means. *Pteronidea olfaciens* Benson was not described in Great Britain until 1953 when larvae were found on black-currants in several localities. There are two generations of larvae the first occuring in May to June in the South of England and the second in July and August. Straggling of the emergences of imagines means that larvae may be found from May till September. The larvae are spotted like those of *Pt. ribesii* but the size of the black spots is intermediate between this species and *Pt. leucotocha*. So far I have not taken the larvae of *Pt. olfaciens* on gooseberry in nature. The feeding period of the larvae of this species is about three weeks and the cocoons are usually constructed within the

top 10 cms of soil under the host plants. *Pt. olfaciens* is becoming more important because of an increase in the production of black-currants for juice and processing. Control of the larvae is obtained by the use of derris or D.D.T. applied in late May and in June against *Pt. olfaciens* and earlier against the other ribes-infesting species.

Of the sawflies that attack Raspberry *Entodecta pumila* Klug is a leaf miner and usually only occurs at the edges of commercial plantations where it has invaded them from wild host plants or in old plantations where due attention is not paid to hygiene. The blotches on the leaves are conspicuous in August and disfigure the foliage.

Empria tridens Kon. has smooth green larvae that are very alert and throw themselves off the leaves at the approach of any danger. They curl up and may roll for some distance on the soil and so escape detection. There are one or two generations in the summer and heavy defoliation can be caused in late July and August.

Emphytus rufocinctus Retz and *Emphytus cinctus* L. may be found on raspberry and strawberry. The larvae are greyish green and smooth. They rest on the lower surfaces of the leaves and eat holes within the periphery or scale off the lower epidermis. From their habit of forming their hibernacula in the pruning snags of roses or the bases of the old canes of raspberries they have been distributed widely in nursery produce.

Cladius pectinicornis, Geoff. whose larvae are pale green and bristly in the early stages, darker green with a mid dorsal pale stripe later and uniform grass green at maturity, is particularly troublesome in strawberry nurseries. There are two or three generations of larvae from April to September and injury may continue until late in September. The larvae hatch from eggs laid in the petiole or in the base of the leaflet mid-rib, and feed on the underside of the leaf often leaving the upper epidermis intact. Some strains will also attack roses.

All the leaf-eating species can be controlled by the timely use of derris, D.D.T., T.E.P.P. and B.H.C. but the B.H.C. must not be used until after the fruit has been picked. Slight differences in seasonal occurrence and in the flight periods of the different species may easily influence the amount of control secured by the use of insecticides. Accurate identification of the fruit-infesting sawflies is desirable and further study of the biology, the larval characters and behaviour of related species is necessary if intelligent control is to be achieved.

INVLOED VAN CHEMISCHE GRONDONTSMETTINGSMIDDELEN OP DE GRONDSCHIMMELFLORA

door

W. Welvaert & R. Veldeman

Bij de bestrijding van schimmelziekten vnl. deze welke voetziekten verwekken spreekt men bijna steeds van grondontsmetting. Dit kan dan als preventieve maatregel gelden wanneer de grond nog braak ligt, doch dit kan mogelijks ook toegepast terwijl de planten in groei zijn.

De vraag welke we ons stelden was de volgende : in hoever ontsmetten deze middelen t.t.z. welke is hun invloed op de grondschimmelflora? Uiteraard zouden we moeten aannemen dat de grondontsmettingsmiddelen een groot gedeelte van de schimmels vernietigen. Nadien zouden we dan mogelijks kunnen nagaan hoe snel de schimmelontwikkeling terug zou beginnen na de ontsmetting.

Een eerste stap welke we in deze korte mededeling willen naar voor brengen is nl. de effectiviteit van enkele klassieke grondontsmetters als vernietigers van schimmels in de grond .De ontsmetters welke we in onze proeven betrokken waren de volgende :

a) Cheshuntmengsel ($CuSO_4$ 2 delen + $(NH_4)_2CO_3$ 11 delen)

b) een organisch kwikpreparaat

c) Oxychinolinesulfaat

d) Formol

e) Chloorpicrine

f) Chlorobroompropeen

Van deze middelen zijn de drie eerstgenoemden mogelijks nog te gebruiken terwijl de planten in groei zijn, de drie laatstgenoemden enkel op braakgrond.

Opstelling van de proef

Daar uit ons vroeger werk alsook uit de literatuur herhaaldelijk is gebleken dat de diversiteit van de schimmelflora zeer groot kan zijn zelfs op relatief korte afstand wilden we dit zoveel mogelijk vermijden door twee maatregelen :

1. Door een innige menging van de te onderzoeken grond.

2. Door op een klein volume te werken.

Voor de drie eerst genoemde ontsmettingsmiddelen werd in een serre gemengelde grond gebracht tot een hoogte van 35 cm. Hierin werden op ± 10 cm van elkaar gegalvaniseerde buizen van 30 cm hoogte en van 95 mm ø in de grond gestopt tot ± 25 cm diepte. Van de grond in de buis werd een mengmonster genomen van de bovenste 5 cm. Dit kontrolemonster werd dan onmiddellijk uitgeplaat om de initiale grondflora te kennen. Kort na het staalnemen behandelden we dan de grond met de resp. ontsmettingsmiddelen in 5 dubbel nl. 100 cm^3 cheshuntmengsel (3 g per liter); 100 cm^3 organisch kwikpreparaat (1 g per liter); 100 cm^3 oxychinolinesulfaat (1 g per liter).

De verdere gegevens nopens deze gronden zijn als volgt :

grond Cheshunt mengsel reeks : vocht : 19-22,5%; pH = 7,6; temp. : 10-12°C
grond Organ. kwik reeks : vocht : 19-22,5 %; pH = 7,6; temp. : 10-12°C
grond Oxychinoline sulf. reeks : vocht : 16%; pH = 7,6; temp. : 10-12°C.

De drie volgende reeksen nl. formol, chloorpicrine (C.P.) chlorobroompropeen (C.B.P.) voerden we uit onder een raam buiten in volle grond gezien de moeilijkheden welke deze gassen bij het werken in serre opleveren. Verder was de werkwijze identisch als voor voorgaande proeven. We gebruikten per buis 0,5 cm^3 C.P. en C.B.P. en 50 cm^3 formol 4%. Deze buizen ook in 5 dubbel behandeld werden nadien afgedekt met een plastiek zeiltje vastgebonden door een gummiringje.

Technische gegevens van de grond : pH = 7,6; vocht : 14,7% temp. : 10°C. Het gaat hier om vrijwel dezelfde humusrijke hofgrond als gebruikt bij de voorgaande proef.

Drie dagen na de behandeling, dus na drie dagen kontakt met het ontsmettingsmiddel, werd een tweede grondmonster genomen. We konstateerden hierbij dat de grond bij de eerste drie reeksen nog duidelijk verzadigd was met de oplossing, en bij de laatste drie reeksen de C.B.P. en C.P. en formol nog duidelijk aanwezig was. Het monster werd genomen uit de bovenste 5 cm grond waarbij de bovenste paar mm vooraf verwijderd werden. Deze grond werd dan uitgeplaat, dus na ontsmetting, om de effek-

Ontsmetting met organisch kwikpreparaat

	1	8	14	16	25 (*)	1/0	8/0	14/0	16/0	25/0 (**)	N.O. (***)	O.
Phycomycetes												
Mucorales												
Mucor	1	48	4	33	2	—	5	10	38	3	88	56
Absidia	—	3	—	—	1	—	—	—	2	—	4	2
Rhizopus	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	2	—
Zygorrhynchus	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	2	—
Syncephalus	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	1	—
Mortierella	24	24	28	42	30	6	3	6	5	3	148	23
Peronosporales												
Pythium	2	4	1	6	2	7	1	—	—	1	15	9
Fungi imperfecti												
Sphaeropsidales												
Phoma	13	3	11	7	23	4	4	1	4	1	57	14
Sphaeronema	6	5	10	13	1	7	5	6	11	9	35	38
Pyrenochaeta	—	1	7	2	3	1	2	6	2	—	13	11
Ceutospora	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	1	—
Coniothyrium	4	12	6	4	14	10	4	5	5	1	40	25
Melanconiales												
Pestalotia	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	2	—
Hyphomycetes (*Mucedinaceae*)												
Monilia	—	—	1	1	—	—	—	1	—	1	2	2
Penicillium	4	5	8	10	13	4	5	6	8	6	40	29
Aspergillus	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	1
Gliocladium	5	3	5	9	8	13	2	6	7	5	30	33
Spicaria	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	1
Paecilomyces	—	—	2	—	1	—	2	—	—	2	3	3
Scopulariopsis	—	—	—	2	2	3	—	2	1	1	4	7
Trichoderma	15	15	20	22	9	48	86	14	16	10	81	174
Cephalosporium	13	8	8	11	5	5	2	3	6	8	45	24
Monosporium	1	—	2	—	—	4	—	—	—	1	3	5
Sepedonium	—	—	—	—	2	5	2	2	2	—	2	11
Verticillium	8	12	17	10	22	6	—	2	14	—	69	22
Acrostalagmus	6	5	8	11	11	20	10	11	34	20	41	95
Geomyces	—	—	4	2	5	3	1	4	3	6	11	17
Humicola	11	5	3	3	5	4	1	2	3	4	27	14
Sporotrichum	—	—	—	—	1	1	—	2	—	1	1	4
Thielaviopsis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
Hyphomycetes (*Dematiaceae*)												
Botrydiae	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—
Dicoccum	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	1
Torula	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	1	—
Pullularia	—	1	6	1	6	—	1	6	9	5	14	21
Periconia	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
Echinobotryum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Trichosporium	—	—	—	—	2	—	—	1	—	—	2	1
Clasterosporium	—	—	4	—	2	—	—	1	—	—	6	1
Stachybotrys	2	—	2	3	—	2	4	1	—	2	7	9
Gliomastix	—	3	—	—	—	1	3	2	5	4	3	15
Papularia	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	2	—
Cladosporium	—	1	1	—	—	1	—	—	—	—	2	—
Curvularia	1	—	2	1	—	—	—	—	—	—	4	—
Dendryphiella	—	—	—	—	1	—	—	1	—	—	1	1
Stemphylium	5	3	1	9	10	7	1	1	6	2	28	17
Hyphom. (*Tubrrculariaceae*)												
Fusarium	85	47	46	45	60	25	21	23	36	20	283	125
Cylindrocarpon	2	1	1	2	—	—	—	—	—	—	6	—
Volutella	1	—	1	2	—	—	—	—	—	—	4	—
Hyphom. (*Stilbaceae*)												
Stilbella	—	—	1	—	—	—	1	1	—	—	1	2
Stysanus	5	2	3	—	7	9	—	1	4	2	17	16
Graphium	—	—	—	—	1	1	—	—	—	—	1	1
Trichurus	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1
Ascomycetes												
Ascomyceet	—	—	—	2	—	—	—	—	—	1	2	1
Sordaria	1	1	1	2	3	1	1	4	2	3	8	11
Chaetomium												
Pleurage	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	1
Sclerotinia	2	—	—	5	—	—	—	—	—	—	7	—
Thielavia terricola	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	—	2
Niet spor. kulturen	2	1	3	12	1	2	4	6	6	11	19	29
Totaal :	223	214	224	276	254	203	171	138	232	134	1191	891

Grondontsmetting met Cheshuntmengsel

	4	7	10	18	22 (*)	4/0	7/0	10/0	18/0	22/0 (**)	N. O. (***)	O.
Phycomycetes												
Mucorales												
Mucor	2	12	5	4	2	38	—	14	8	12	20	58
Absidia	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
Rhizopus	—	2	1	2	—	—	2	—	—	3	4	5
Zygorrhynchus	—	3	—	—	2	—	—	—	—	—	5	—
Mortierella	—	31	2	29	21	7	23	16	2	11	81	43
Peronosporales												
Pythium	—	3	—	3	1	—	2	1	—	2	7	4
Fungi imperfecti												
Sphaeropsidales												
Phoma	3	6	—	6	10	6	3	9	1	4	25	14
Sphaeronema	8	11	47	11	6	14	11	59	13	8	36	46
Pyrenochaeta	2	2	—	1	4	2	6	1	—	1	9	9
Ceutospora	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	1
Robillardia	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	1	—
Coniothyrium	1	6	—	6	11	6	21	9	2	13	24	42
Melanconiales												
Pestalotia	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—
Vermicularia	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	1	—
Hyphomycetes (*Mucedin.*)												
Monilia	—	2	—	2	1	—	1	—	—	—	5	1
Penicillium	8	6	—	10	10	2	6	—	4	3	34	16
Aspergillus	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	1	—
Gliocladium	3	3	—	9	7	10	13	6	4	5	21	32
Spicaria	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	4	4
Paecilomyces	4	1	—	—	—	1	1	2	—	1	5	3
Scopulariopsis	1	—	—	1	6	—	3	—	1	4	8	8
Trichoderma	19	18	—	8	16	27	29	40	55	34	59	145
Cephalosporium	14	12	—	6	13	3	4	6	5	8	45	20
Monosporium	4	—	—	1	—	1	1	2	2	2	5	5
Sepedonium	2	8	—	2	2	—	1	—	—	—	14	1
Verticillium	23	25	—	9	16	3	20	7	9	14	73	46
Acrostalagmus	4	12	—	10	7	24	14	20	3	17	33	58
Geomyces	1	3	—	3	1	9	9	1	2	2	8	14
Humicola	3	7	—	3	8	5	9	1	3	1	21	18
Sporotrichum	—	1	—	—	—	—	2	—	—	—	1	2
Hyphomycetes (*Demat.*)												
Botridiae	—	1	—	—	1	—	—	—	—	—	2	—
Botrytis	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
Dicoccum	—	—	—	—	1	1	—	—	—	—	1	1
Torula	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pullularia	2	1	—	—	4	5	2	3	1	4	7	12
Echinobotryum	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	1
Trichosporium	2	—	—	—	2	—	—	—	—	—	4	—
Clasterosporium	—	—	—	1	1	—	—	1	—	1	2	1
Stachybotrys	3	2	—	2	1	1	2	—	1	2	8	6
Gliomastix	—	2	—	—	—	1	2	—	4	4	2	11
Papularia	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	1	1
Memmoniella	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	1	—
Cladosporium	—	—	—	2	2	3	2	1	—	1	4	6
Curvularia	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—
Papulaspora	1	—	—	—	—	1	1	—	—	—	2	2
Dendrophiella	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
Stemphylium	4	4	—	—	4	10	17	18	3	11	12	41
Alternaria	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	2	—
Hyphom. (*Tuberculariaceae*)												
Fusarium	47	58	1	69	45	29	55	69	51	86	219	220
Cylindrocarpon	1	—	—	—	—	1	—	3	—	—	1	3
Volutella	—	—	—	3	1	1	—	—	—	—	4	1
Hyphom. (*Stilbaceae*)												
Stilbella	—	—	—	—	—	—	—	1	1	—	—	2
Stysanus	3	5	—	3	10	3	2	—	2	3	21	10
Graphium	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	1	—

Ontsmetting met Oxychinolinesulfaat

PH = 7,6	Vocht : 16%			t° = 10 — 12°		
	17	17/0	23	13/0	Niet Ontsmet	Ontsmet
Phycomycetes						
Mucorales						
Mucor	4	—	2	1	6	1
Zygorrhynchus	—	—	2	—	2	—
Mortierella	3	2	1	2	3	4
Peronosporales						
Pythium	2	—	—	—	2	—
Fungi imperfecti						
Sphaeropsidales						
Phoma	2	—	4	—	6	—
Pyrenochaeta	1	—	2	2	3	2
Sphaeronema	9	1	17	9	26	10
Coniothyrium	3	1	11	11	14	12
Hyphomycetes (Mucedinaceae)						
Aspergillus	1	—	—	—	1	—
Penicillium	27	18	42	46	68	64
Gliocladium	2	—	10	2	12	2
Scopulariopsis	1	1	3	—	4	1
Monilia	1	2	1	—	2	2
Paecilomyces	—	—	2	—	2	—
Cephalosporium	4	—	19	—	23	—
Trichoderma	4	1	8	7	12	8
Geomyces	—	2	—	1	—	3
Sepedonium	2	2	1	—	3	2
Verticillium	12	2	12	3	24	5
Acrostalagmus	7	1	11	8	18	9
Humicola	3	—	4	3	7	3
Hyphomycetes (Dematiaceae)						
Torula	2	2	—	—	2	2
Dicoccum	—	—	1	—	1	—
Stachybotrys	2	—	—	—	2	—
Cladosporium	—	—	1	—	1	—
Stemphylium	4	—	11	4	15	4
Clasterosporium	—	—	1	—	1	—
Hyphomycetes (Tuberculariaceae)						
Fusarium	53	23	75	10	128	33
Cylindrocarpon	2	—	2	—	4	—
Volutella	2	—	—	—	2	—
Hyphomycetes (Stilbaceae)						
Stysanus	3	2	—	2	3	4
Ascomycetes						
Chaetomium	1	—	1	—	2	—
Sporormia	—	—	1	—	1	—
Ascomyceet	—	1	—	—	—	1
Sporotrichum	—	—	1	—	1	—
Mycelia sterilia						
Rhizoctonia	—	—	—	1	—	1
Niet gedetermineerde kulturen	4	2	4	1	8	3
Totaal	161	63	250	113	411	176

NB. 17 en 23 — controle monster.
17/o en 23/o — na behandeling.

De drie andere herhalingen werden niet meer afgeent. We beperken er ons bij deze enkel te tellen. De uitslag hiervan was als volgt :

Nº 9	12	17	15	24	9/o	11	16	16	7
	33	B	15	14		B	4	19	8
2	14	14	20	B	2/o	14	10	13	8
	21	18	13	24		6	7	11	15
11	15	B	15	23	11/o	10	9	12	10
	16	17	6	B		10	12	28	13

enkele schalen gemerkt B hadden luchtbe[illegible] juiste

Ontsmetting met Formol, Chloorpicrine, Chlorobroompropeen

Geïsoleerde schimmels	Ontsmet met :								Samenvattende tabel			
			Formol		Chloor-picrine		Chloro-broom-propeen					
	1(*)	2	F1	F2	C1	C2	B1	B2	N.O.	F	C	B
Phycomycetes												
Mucorales												
Mucor	15	18	—	1	—	—	—	—	33	1	—	—
Mortierella	1	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—
Fungi imperfecti												
Sphaeropsidales												
Phoma	7	1	—	—	—	—	—	—	8	—	—	—
Sphaeronema	5	6	—	—	—	—	1	—	1	—	—	1
Coniothyrium	3	2	—	—	—	—	—	—	5	—	—	—
Hyphomycetes (*Mucedinaceae*)												
Penicillium	25	23	3	2	1	2	6	—	48	5	3	6
Aspergillus	1	3	—	—	—	—	—	—	4	—	—	—
Gliocladium	3	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—	—
Paecilomyces	—	1	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—
Scopulariopsis	1	1	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—
Trichoderma	5	8	—	—	3	5	—	—	13	—	8	—
Cephalosporium	1	1	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—
Verticillium	—	1	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—
Acrostalagmus	1	2	—	—	—	—	—	—	3	—	—	—
Geomyces	1	1	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—
Spondylocladium	1	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—
Humicola	—	3	—	—	—	—	—	—	3	—	—	—
Hyphomycetes (*Dematiaceae*)												
Torula	—	1	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—
Pullularia	11	3	—	—	—	—	—	—	14	—	—	—
Periconia	—	2	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—
Trichosporium	—	1	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—
Stachybotrys	2	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—
Gliomastix	1	1	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—
Botryotrichum	1	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—
Cladosporium	11	5	—	—	—	—	—	—	16	—	—	—
Stemphylium	4	3	—	—	—	—	—	—	7	—	—	—
Hyphomycetes (*Tuberculariaceae*)												
Fusarium	46	50	—	—	—	—	5	—	96	—	—	5
Volutella	—	2	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—
Ascomycetes												
Chaetomium	—	—	—	—	—	—	9	1	—	—	—	10
Sordaria	8	—	—	—	—	—	—	—	8	—	—	—
Sporormia	1	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—
Ascom. 1	—	1	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—
Ascom. 2	—	1	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—
Niet sporulerende kulturen	2	6	—	—	—	1	—	1	8	—	1	1
Totaal	157	147	3	3	4	8	21	3	304	6	12	23

(*) 1 en 2 = controlemonsters van resp. F_1 — F_2, C_1 — C_2 en B_1 — B_2.

Vergelijkende tabel

	Chestunt		Organ. kwik		Oxychinoline		Samenvattende tabel			
	N. O.	O.	N. O.	O.	N. O.	O.	N. O.	O. F.	O. C.	O. B.
Phycomycetes										
Mucorales										
Mucor	5	12	18	11,2	—	—	16,5	0,5	—	—
Mortierella	—	—	—	—	—	—	0,5	—	—	—
Andere	20	11	31	5	6	2,5	—	—	—	—
Peronosporales										
Pythium	2	1	3	2	1	—	—	—	—	—
Fungi imperfecti										
Sphaeropsidales										
Phoma	6	4	12	3	—	—	4	—	—	—
Sphaeronema	9	12	7	7,5	13	5	5,5	—	—	0,5
Coniothyrium	6	11	2	5	—	—	2,5	—	—	—
Andere	2,5	2,5	3	2	11,5	7	—	—	—	—
	1		0,5							
Melanconiales										
Hyphomycetes (Mucedinaceae)										
Penicillium	8	4	8	6	34,5	32	24	2,5	1,5	3
Aspergillus	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—
Gliocladium	5	8	6	7	—	—	1,5	—	—	—
Trichoderma	15	36	16	35	6	4	6,5	—	—	—
Cephalosporium	14	5	9	5	—	—	1	—	—	—
Verticillium	18	12	13	4	12	2,5	0,5	—	—	—
Humicola	5	4	5	3	—	—	1,5	—	—	—
Acrostalagmus	—	—	8	19	9	4,5	1,5	—	—	—
Paecilomyces	—	—	—	—	—	—	0,5	—	—	—
Scopulariopsis	—	—	—	—	—	—	1	—	4	—
Geomyces	—	—	—	—	—	—	0,5	—	—	—
Spondylocladium	—	—	—	—	—	—	1,5	—	—	—
Andere	22	24	5	11	27	6,5	—	—	—	—
Hyphomycetes (Dematiaceae)										
Torula	—	—	—	—	—	—	0,5	—	—	—
Pullularia	2	3	3	4	3	4	7	—	—	—
Periconia	—	—	—	—	—	—	0,5	—	—	—
Trichosporium	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—
Stachybotrys	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—
Gliomastix	—	—	—	—	—	—	0,5	—	—	—
Botryotrichum	—	—	—	—	—	—	8	—	—	—
Cladosporium	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Stemphylium	3	10	6	3	7,5	2	3,5	—	—	—
Andere	9	7	6	7	3,5	1	—	—	—	—
Hyphomycetes (Tuberculariaceae)										
Fusarium	55	55	51	25	64	16,5	48	—	—	2,5
Volutella	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—
Andere	z	1	2	—	3	—	—	—	—	—
Hyphomycetes (Stilbaceae)										
Stysanus	5	2,5	3	3	1,5	2	—	—	—	—
Andere	0,25	0,25	1	1	—	—	—	—	—	—
Ascomycetes										
Chaetomium	1	—	1,5	2	—	—	4	—	—	5
Sordaria	—	—	—	—	—	—	0,5	—	—	—
Ascomyceet 1	—	—	—	—	—	—	0,5	—	—	—
Ascomyceet 2	—	—	—	—	—	—	0,5	—	—	—
Andere	1,5	1	2	1	2	0,5	—	—	—	—
Mycelia sterilia										
Rhizoctonia	—	—	—	—	—	0,5	—	—	—	—
Niet sporulerende kulturen	7	7	4	8	2	1,5	—	—	—	0,5
Totaal	221,25	232,25	238	178	205	88	152	3	5,5	11,5

O.F. : ontsmet met formol.
O.C. : ontsmet met chloorpicrine.
O.B. : ontsmet met chlorobroompropeen.
Cijfers per monster.

rolemonsters van resp. E — E, C — C en B — B —

tiviteit van de middels na te gaan. Merk op dat we ons bij deze proeven zo dicht mogelijk hielden bij de doses normaal in de praktijk aangewend.

Uitplaatmetode

Voor de te gebruiken uitplaatmetode o.a. de te gebruiken agar viel onze keuze op de metode van Martin (1) nl. een dextrose, peptone agar met rose-bengal nl.

10 g dextrose
5 g peptone
1 g KH_2PO_4
0,5 g $MgSO_4 . 5 H_2O$
12,5 g agar
1 liter water

Een rose-bengal oplossing werd toegevoegd tot 1/30.000 verdunning. Vóór het uitplaten voegden we een streptomycine oplossing toe tot een concentratie van 1/15.000. De pH van de bodem bedroeg 5,6.

De gebruikte werkwijze van uitplaten was als volgt : 1 g van de grond werd afgewogen per monster en deze in een erlenmeyer met 100 cm^3 steriel water gebracht. Deze een paar minuten schudden tot desagregatie van de grond, waarna onder goed schudden met een steriele pipet 5 cm^3 van de suspentie in een tweede erlenmeyer met 100 cm^3 water werd overgepipetteerd. Ten slotte werd van deze verdunning 8 cm^3 overgepipetteerd in een erlenmeyer waarin 120 cm^3 uitplaat agar op de gewenste temperatuur nl. 40-42°C. Onmiddellijk daarop werd dan 1 cm^3 streptomycine toegevoegd van 3 mg/cm^3. Deze geënte agar goten we uit in 8 petrischalen.

Van zodra zich hieruit schimmels ontwikkelden werden deze allemaal afgenomen en overgeënt in cultuurbuisjes. Na voldoende ontwikkeling werden de schimmels bepaald onder het mikroskoop.

Bekomen uitslagen

Hierna volgen de uitslagen van de schimmelbepalingen.

Besluit

Uit de bekcmen resultaten kan duidelijk blijken dat voor de drie eerst in proef genomen middelen nl. chesthuntmengsel, het organisch kwikpreparaat en oxychinolinesulfaat van geen eigenlijke ontsmetting sprake is in de gebruikte doses. Wel blijkt er een zekere reductie en verschuiving waarneembaar.

Door chesthuntmengsel is niet eens reductie merkbaar; wel is het aantal Trichoderma kulturen sterk gestegen. Met het organisch kwikpreparaat is ook een reductie en duidelijke verschuiving nl. meer Penicillium, Trichoderma en Acrostalagmus, en minder Fusarium en Mortierella. Een algemene reductie is merkbaar met het oxychinolinesulfaat iets meer dan 50% wat eigenlijk nog zonder betekenis is in de zin van ontsmetten.

Deze cijfers kunnen een verklaring geven aan mislukkingen bij vroegere proeven met bv. organisch kwikpreparaat gebruikt als grondontsmettingsmiddel tegen Fusariose van meloenen. Een vertraging van de ziekte was steeds duidelijk waar te nemen. Soms een volle maand, doch uiteindelijk werden de planten ook ziek. Of en hoe deze produkten effekt hebben of kunnen hebben willen we in het midden laten, wel weten we nu dat we niet van een eigenlijke ontsmetting mogen spreken.

Anders is het geval van chloorpicrine, chlorobroompropeen en formol. Hier mogen we wel van een echte grondontsmetting gewagen. De sporadisch overgebleven schimmels zijn als een normaal verschijnsel te aanvaarden.

Bij proeven over herpopulatie na ontsmetting met chemische middelen kan dan ook enkel uitgegaan worden, wat betreft de door ons onderzochte middelen, van laatstgenoemde drie produkten.

LITERATUURGEGEVENS

1. MARTIN S. P. — Soil science, 69-215, 1950.

SAMENVATTING

De grond schimmelflora werd bepaald van gronden vóór en na behandeling met een zestal verschillende middelen welke in de praktijk worden aangewend om gronden te ontsmetten tegen zwamziekten. We testten zo : een organisch kwikpreparaat, Cheshuntmengsel, Oxychinolinesulfaat, chloorpicrine, chlorobroompropeen en formol.

Na een drietal dagen inwerking van het produkt op de grond werd het monster ,,na behandeling'' genomen. Voor de schimmelflorabepaling werd de uitplaatmetode gebruikt.

De florawijziging was het geringst bij Cheshuntmengsel lichte wijziging werd gekonstateerd met het organisch kwikpreparaat en Oxychinolinesulfaat. Werkelijke reductie en ontsmetting werd bekomen met chloorpicrine, formol en chlorobroompropeen. Daaruit kan besloten dat van de onderzochte stoffen enkel de drie laatstgenoemde werkelijke ontsmetters zijn.

RESUME

Influence de désinfectants du sol sur la mycoflore

La mycoflore d'un sol fut déterminée avant et après traitement avec six différents produits du commerce utilisés comme désinfectant du sol contre les mycoses. Nous citons un produit à base de mercure organique, le mélange Cheshunt, le sulfate d'oxychinoline, chloropicrine, formaldehyde, chlorobromepropène.

L'échantillon fut pris trois jours après traitement du sol avec le produit. Les isolements de champignons fûrent effectués, par la méthode à dilutions.

Les changements de la mycoflore étaient minimes avec resp. mélange Cheshunt, mercure organique et sulfate d'oxychinoline. Un vraie réduction de la mycoflore et désinfection du sol fut obtenue avec la chloropicrine, le chlorobromepropène et la formaldehyde. Nous en concluons que seul ces trois derniers produits peuvent être considérés comme désinfectants du sol sensu stricto.

SUMMARY

Influence of soil desinfectants on the fungus flora

The fungus flora of a normal garden soil was determined before and after treatment with six different commercial products, known as chemical soil desinfectants against mycosis.

We tested an organic mercurial, a cheshunt compound, an oxychinoline sulfate, chloropicrine, formalin and chlorobroompropene.

To detect the effect of the desinfection, samples of the soil ware taken three days after the treatment and the fungi left over were determined by the plate method.

The fungus soil-flora was but little affected by Cheshunt compound, organic mercurial and oxychinoline sulfate. Real reduction of the flora and desinfection was obtained with chloropicrin, formalin and chlorobroompropene. Of the tested products only the latter three deserve the name of desinfectants.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Einfluss von Chemischen Bodenentseuchungsmitteln auf der Fungusflora

Die Fungusflora normaler Gartenerde wurde untersucht vor und nach der Behandlung mit sechs verschiedenen Handelspräparaten mit fungizider Wirkung. Ein organisches Quecksilberderivat, ,,Cheshunt Compound'', Oxychinolin-sulfat, Chlorpikrin, Formol und Chlorobroompropen wurden geprüft.

Drei Tage nach der Behandlung wurden Bodenproben genommen und die Fungusflora determiniert.

Es zeigte sich das die Bodenpilze nur wenig beeinflusst wurden durch das organische Quecksilber, ,,Cheshunt compound'' und Oxychinolinesulfat. Chlorpikrin, Formol und Chlorobrompropen aber verursachten eine bedeutende Harabsetzung der Flora und verdienen den Namen Bodenentseuchungsmittel.

Prof. G. Dumon, Leuven

V : Welk is, na de ontsmetting waarmee goede uitslagen werden bekomen, de samenstelling van het mikrobiologische leven, is hierop ook een invloed te merken?

A : Daar bij de gebruikte uitplaatmethode steeds streptomicine in de agar werd gemengd zodanig dat de bacterien geremd werden konden wij in onze platen weinig of geen bacteriekolonies waarnemen a fortiori geen verschil opmerken tussen behandelde en niet behandelde objekten.

Prof. Guillemat J. E. N. A., Grignon, France

V : Intérêt de 1° la connaissance de la profondeur du sol touchée par la désinfection.
2° vitesse de récolonisation.
3° Etude de l'action spécifique et non générique.
4° Distinction entre action fugace et action permanente (accumulation).
5° Détermination du nouveau complexe mycologique. Intérêt de faire disparaître les pathogènes et de favoriser les espèces favorables.

A : We betwijfelen niet het belang van de diepte van de ontsmetting, noch de snelheid van herkolonisatie. Onze bedoeling was echter zoals hoger vermeld van in de optimale omstandigheden ontsmetting uit te voeren en in dat geval de flora vernietiging of verschuiving na te gaan. Daarom ook dat in ons geval de invloed op specifieke schimmels ons niet zo belangrijk leek dan wel de totale invloed op de onderscheidene families.

Wat de bepaling aangaat van het nieuw-complex daarvoor moeten we eerst zeker zijn dat er werkelijk een diepgaande invloed was. Dit was onze eerste opzet waarna mogelijks het nieuwe complex dat zich zal vormen kan bepaald. Zo ook kan nadien de voorbijgaande en blijvende invloed worden nagegaan.

BESTRIJDING VAN PLANTENZIEKTEN MET ANTIBIOTICA SPECIALE ZAADBEHANDELING TEGEN USTILAGO TRITICI

door

C. Van Assche

Laboratorium voor plantenziekten (Prof. dr. H. Scheerlinck)
Landbouwinstituut van de Universiteit, Leuven

Het is wel een verheugend feit dat de geneeskunde der planten na de laatste wereldoorlog zo'n uitbreiding heeft genomen.

De toename en centralisatie van de bevolking en de vermindering van de cultuurgronden in die landen, brengt een noodzakelijke intensivering van de land- en tuinbouwuitbatingen ter plaatse mede. Wanneer men aldus de meest mogelijke produktiemiddelen aanwendt, moet een eventuele ziekte ook meer aandacht vanwege kwekers en onderzoekers vragen.

Nochtans worden tot nu toe, met de onrechtstreekse (selectie, voeding, teeltzorgen) — en rechtstreekse bestrijdingsmiddelen (physische en chemische), niet alle kwalen onderdrukt. Het zijn voornamelijk de endoparasieten, t.t.z. de absoluut endoparasieten en gedeeltelijk de half-endoparasieten, die het meest ontsnappen aan de tot hiertoe gekende bestrijdingsmiddelen.

De stuifbrand van tarwe (Ustilago tritici) is hier wel een interessant voorbeeld; de meeste chemische fungiciden zijn niet bij machte de inwendige parasiet te doden of te remmen, en de physische methode met warm water voldoet absoluut niet wegens de hoge kostprijs en de onvolkomen bestrijding.

Het bestrijden van deze ziekte bij middel van een systemisch fungicide zou nochtans de poort open stellen om vele ziektekiemen in land- en tuinbouw te onderdrukken. Voornamelijk een uitgebreide zaadontsmetting zou er toe bijdragen een groot aantal plagen te onderdrukken; zeer vele ziekten immers worden door het zaad overgedragen; worden hierin de endoparasieten met goed succes bestreden, dan zal automatisch ook de woekering van vele exoparasieten worden stil gelegd. Zo bv. zou in bepaalde gevallen steenbrand van tarwe (Tilletia tritici) worden tegengegaan door zaadontsmetting tegen stuifbrand (Ustilago tritici) en zo het produkt niet-fungicide is t.o.v. de clamydosporen zal het toch later

het mycelium van Tilletia aantasten, onder voorwaarde echter dat het fungicide voldoende stabiel blijft.

Meer en meer wordt er gezocht naar chemisch fungicidestoffen die door het plantensap worden opgenomen en aldus langs de vaatbundels alle inwendige delen van de plant bereiken. We onderscheiden hier twee groepen : de systemische fungiciden (in beperkte zin) en de antibiotica.

I. Systemische fungiciden

Hiermede werden reeds heel wat proefnemingen gedaan o.a. met :

Hydroxyquinoleïnesulfaat.

4-Chloro-3,5-dimethyl phenoxy ethanol.

Norcamphaan methanol.

Malachietgroen.

Hexachlorobenzeen.

Proeven zijn aan gang met hydroxyquinoleïnesulfaat en Malachietgroen, tegen .Ustilago tritici en Ascochyta pisi. De phytotoxiciteit van het eerste produkt, in opgeloste vorm, is zeer groot voor zaden (bv. 0,2% voor tarwe). De proeven met Malachietgroen zijn zeer gunstig; een verzadigde oplossing van dit produkt in water is radikaal voor sporen en mycelium van Ustilago spec. in vitro. De tarweplanten gedragen zich zeer goed na een vochtige zaadbehandeling en vertonen minder sterfte-gevallen dan wel de getuigen; beide groepen zijn afkomstig van een partij kunstmatig geinfecteerd zaad.

II. Antibiotica

Nog meer recent zijn echter de proefnemingen met antibiotica als fungiciden of bactericiden. Reeds werden interessante pogingen gedaan door Dekker en andere onderzoekers, bv. tegen Ascochyta pisi op erwten.

De meest geteste antibiotica zijn : Actidion, Rimocidin, Gliotoxin, Viridin, Antimycin, Clavacin, e.a.

Bij de studie van de Ustilago spec. hebben we verschillende antibiotica, zowel afkomstig van bacteriën, actinomyceten, schimmels als hogere planten, getest (*).

(*) Nystatin, Actinomycin en Iturin werden ons bereidwillig aangeboden door Ing. Van Dijk, Laboratorium van Bacteriologie, Leuven.

1) **Humulon** ($C_{21}H_{30}O_5$) **en Lupulon** ($C_{26}H_{38}O_4$)

Beide plantaardige antibiotica, afkomstig van gedroogde hop (Humulus Lupulus), zijn in vitro zeer interessant als fungiciden tegen clamydosporen van Tilletia en Ustilago spec. Humulon en Lupulon zijn oplosbaar in Hexan. Kunstmatig geinfecteerde tarwekorrels werden gedurende 12 uur geweekt in een oplossing en vervolgens langzaam gedroogd. De behandelde tarwekorrels gaven parasietvrije kiemplanten in vergelijking met de getuigen, en dit zowel na Humulon- als Lupulonbehandeling. Het onderzoek van de zaden gebeurde na hydroxydenbehandeling met behulp van eosine en ultra-violetstralen; het bladonderzoek met katoen-blauw of door opsporen van chitine met chloorzinkiodium na behandeling telkens met chloordioxydazijnzuur.

Het grote gebrek van beide antibiotica is echter dat ze te weinig stabiel zijn aan de lucht.

2) **Nystatin** ($C_{46}H_{83}O_{18}$) **ook nog Mycostatin of Fungicidin genaamd**

Dit antibioticum wordt geproduceerd door Streptomyces aureus of Streptomyces noursei en is oplosbaar in lagere alcoholen en aceton. Het door ons gebruikte produkt bevat 574,712 E/mg.

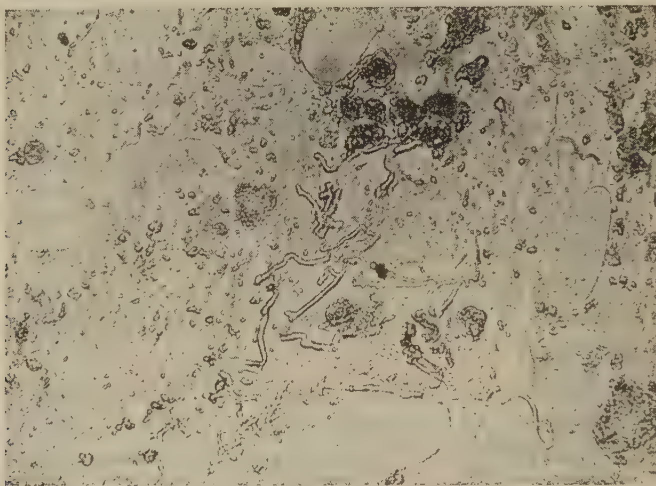
Nystatin is zeer werkzaam tegen schimmels; o.a. worden clamydosporen van Ustilago spec. op voedingsbodem van bierwortagar totaal verhinderd te kiemen met een dosis van 250 p.p.m. Het mycelium van Ustilago tritici en Ustilago zeae wordt volledig onderdrukt met een dosis van 125 p.p.m. Om zaadbehandeling op tarwe toe te passen hebben we verschillende procédés gebruikt die voornamelijk steunen op de aard van het oplosmiddel; dit laatste is — Ofwel een oplossing van 10% aceton en 90% water waarin we de zaden 10 tot 25 uur laten weken, waarna ze worden gedroogd,

— Ofwel een oplossing van celluloseacetaat in aceton-water (50%), waarin de zaden even worden gedompeld en daarna gedroogd, wat na een paar uur is verwezenlijkt,

— Ofwel worden de zaden bespoten met een oplossing van 5 gr celluloseacetaat in 100 cm^3 aceton, waarbij de zaden ogenblikkelijk drogen.

In het eerste geval wordt reeds gedurende het weken het antibioticum opgenomen door de zaden; de dosis curativa wordt reeds bereikt met 125 p.p.m. en, zo we gaan tot een dosis van 500 p.p.m., zijn er niet de minste groeistoornissen op de kiemplant waar te nemen. De terapeutische index van Ehrlich $\left(\frac{\text{Dosis curativa}}{\text{Dosis tolerata}}\right)$ is dus wel zeer klein voor dit systemisch fungicide en bijgevolg de veiligheidsgrens voldoende groot.

Merkwaardig is wel dat het oorspronkelijk dauermycelium in de behandelde korrel nog een zekere rekking ondergaat, die echter dadelijk wordt stilgelegd zodra de sapstroom voldoende is. Deze verschijnselen kunnen we zeer goed waarnemen bij microscopisch onderzoek naar het interne mycelium van zaad en jonge plant (afb. 1 + 2).



Afb. 1 — Dauermycelium van Ustilago tritici in tarwekorrel, na kunstmatige infectie.

Afb. 2 — Het mycelium van Ustilago tritici ondergaat de remmende invloed van nystatin, vooral bij de kieming van de korrel.

Merken we op dat deze natontsmetting ten hoogste 10 dagen vóór het uitzaaien mag gebeuren; indien we immers vroeger vóór de zaaitijd het produkt aldus toedienen, heeft het geen invloed

meer op de groei van het mycelium in het kiemende zaad en de jonge plant. Dit verschijnsel kunnen we waarnemen door vergelijking met de getuigen. De reden hiervan is de te geringe stabiliteit van het antibioticum in deze toestand. Anderzijds vertoeft het mycelium in meer vitale toestand bij de kieming, en heeft het laattijdig toegediend antibioticum meer effect.

Daarom hebben we besloten liever de tweede en voornamelijk de derde methode van zaadbehandeling toe te passen. De minimale dosis curativa is hier 500 p.p.m., van het produkt met 574,712 E/mg. Wat echter geen gevaar biedt voor de plant daar een dosis van 10.000 p.p.m., onder die vorm toegediend, nog geen phytotoxische werking heeft. De zaden, omgeven van een zeer dun vliesje dat het antibioticum bevat, worden dan op filterpapier of in grond uitgezaaid. De groei van deze planten is zelfs iets beter dan die van de getuigen en bij de rassen die gedeeltelijk afsterven (overgevoeligheid-in verband met de dichtheid van het mycelium in de korrel) is na de eerste 14 dagen het behoud van de planten verzekerd en zijn er tenslotte merkelijk minder weggevallen dan bij de getuigen. Het antibioticum wordt dus slechts in vertraagd tempo opgenomen, wat we nagaan door het uitleggen van stukjes bladweefsel midden een cultuur van mycelium van Ustilago tritici. Slechts rond het plantenweefsel genomen 10 à 12 dagen na het zaaien zien we verschijnselen van antibiose op de voedingsbodem.

De effectiviteit van het antibioticum, volgens deze methode toegediend, is dus niet direct ,het mycelium kan in de kiemplant tot 2 cm opklimmen vooraleer het geremd wordt in zijn groei, dit in tegenstelling met de natte ontsmettingsmethode waar we ten hoogste een lichte strekking van de parasiet waarnemen.

3) **Actinomycin** ($C_{41}H_{56}O_{11}N_8$)

Actinomycin wordt geprodudeerd door Actinomyces antibioticus en is zeer werkzaam tegen schimmels. Een oplossing, in 10 delen aceton en 90 delen water, van 250 p.p.m. van een produkt met ± 1000 E/mg remt in vitro volledig de ontwikkeling van het mycelium van Ustilago tritici. Gebruikt volgens de natte methode is het produkt echter toxisch voor de plant en dit reeds bij een dosis van 200 p.p.m., zodat de index van Ehrlich groter is dan 1 en bijgevolg die werkwijze uitgesloten. Sommige rassen sterven wel niet dadelijk doch vertonen anthocyaan, zowel in nietgeparasiteerde als geparasiteerde planten. Het verschijnen van anthocyaan, door gebruik van een dosis van minstens 200 p.p.m. volgens beschreven methode, is dus niet te wijten aan de aanwezigheid van de parasiet. Wanneer men het produkt langzaam door het zaad in de jonge plant laat opnemen, bv. in een oplossing van 5 gr

celluloseacetaat in 100 cm^3 aceton-water (50%), dan ligt de dosis tolerata hoger dan 1.000 p.p.m. en heeft een dosis van 300 p.p.m. reeds volledig meesterschap over de endoparasiet.

4) **Iturine**

Dit antibioticum wordt geproduceerd door Bacillus subtilis (var. Ituriensis) en is oplosbaar in water. Het door ons gebruikt produkt bevat ± 50 E/mg en is bij een dosis van 500 p.p.m. werkzaam tegen clamydosporen van Ustilago spec. in vitro. De lethale dosis voor het mycelium van Ustilago tritici en Ustilago zeae is 300 p.p.m. en het jonge plantenweefsel zowel van tarwe als maïs is gevoelig voor een dosis van 500 p.p.m.

De natte zaadontsmettingsmethode met een produkt van 350 p.p.m. in zuiver water of een waterige oplossing van aceton geeft ons gunstig resultaat tegen Ustilago tritici. De tijd tussen de behandeling en het zaaien mag echter ten hoogste 3 dagen bedragen en de eventuele Tilletiasporen die uitwendig op de korrel zitten worden in hun ontwikkeling niet geremd.

5) **Agrimycin**

Is een samengesteld antibioticum bestaande uit 15% streptomycin en 1,5 % terramycin.

Streptomycin ($C_{21}H_{39}N_7O_{12}$) wordt geproduceerd door Streptomyces griseus en heeft sterk antibacteriële eigenschappen.

Terramycin ($C_{22}H_{24-26}N_2O_9.2H_2O$) is een afscheidingsprodukt van Streptomyces rimosus en heeft eveneens antibacteriële eigenschappen.

Agrimycin is zeer stabiel ook in een oplossing met water. Dit tweevoudig antibioticum hebben we toegepast voor zaadbehandeling voornamelijk in een oplossing van 5 gr celluloseacetaat per 100 cm^3 aceton-water (50%); kort na de behandeling is het zaad weer droog en zit het antibioticum rond de opperhuid in een zeer dun vliesje, waar het zal worden opgenomen door de wortels van de kiemende plant.

Agrimycin heeft antibacteriële eigenschappen o.a. tegen de geslachten : Micrococcus, Bacillus, Xanthomonas en Pseudomonas. Nu weten we dat verschillende bacteriële ziekten langs de graankorrels worden overgedragen o.a. :

Micrococcus tritici (roodkorreligheid der graangewassen).

Xanthomonas translucens (zwarte strepenziekte van het kaf).

Pseudomonas stewarti („Bacterial-wilt" op maïs).

Bacillus zeae („Corn-Blight" op maïs).

We krijgen hier een merkwaardig parallellisme tussen anthocyaanvorming op de plant, — afsterven van de plant en antibioticumbehandeling.

Met een dosis van meer dan 1.000 p.p.m. treedt er anthocyaan op bij gelijk welk ras, onafhankelijk of de graanvrucht ziek is of niet. De vorming van de niet-groene pigmenten hangt dus geenszins af van de aanwezigheid van een parasiet maar is een specifieke reactie tussen het antibioticum en de jonge plant.

Eerst is de kleur van de plant zuiver roos, om geleidelijk te verzwakken. Na 4 à 5 weken zal een deel van de planten afsterven, de rest blijft sterk achteruit in groei; na 6 à 8 weken verliest dit gedeelte zijn anthocyaan en zal het chlorophyl weer de overhand krijgen.

Te sterke dosis agrimycin is steeds nadelig door anthocyaanvorming waaruit voortvloeit: afsterven van de jonge plant of achteruitblijven in groei. Interessanter is echter het verschijnsel dat de zaden die een agrimycin behandeling hebben ondergaan met een dosis kleiner dan 1.000 p.p.m., doch minstens 200 p.p.m., een versterkte groei vertonen ten opzichte van de getuigen, zodat we mogen besluiten dat een gepaste dosis (200 tot 700 p.p.m.) agrimycin voor zaadbehandeling de ontwikkeling van de plant bevordert door uitschakelen van bacteriële ziektekiemen en door groeistimulering.

Door deze proefnemingen die in uitgebreide mate worden doorgevoerd, blijkt voldoende het nut dat uit het gebruik van enkele antibiotica zou kunnen getrokken worden in verband met de planziekten. De proefplanten op het veld worden met nauwkeurigheid gevolgd en regelmatig in hun bladeren onderzocht om het gedrag van de endoparasiet na te gaan.

SAMENVATTING

Ustilago tritici is te beschouwen als een voorbeeld van de endoparasieten. Een bijzondere studie werd gewijd aan producten met een innerlijk therapeutische werking namelijk systemische fungiciden (in beperkte zin) en antibiotica.

Proeven werden gedaan met Hydroxyquinoleïnesulfaat, Captan, Spergon, Malachietgroen, Norcamphaanmethanol en Hexachloorbenzeen.

Als antibiotica werden aangewend : Humulon, Lupulon, Nystatin, Actinomycin en Iturin. De meest interessante uitslagen werden verkregen met Captan, Humulon, Lupulon, Nystatin en Actinomycin. Het eerste product is een waterige oplossing van 0,25%, Humulon en Lupulon onder vorm van een Hexanoplossing, Nystatin en Actinomycin (respect. 500 en 300 p.p.m.) in een oplossing van cellulose-acetaat in aceton-water. Al de behandelingen gebeuren op het zaad. Regelmatig worden zaad- en plantenweefsel onderzocht naar het gedrag van de endoparasiet, de zaden met hydroxyden en ultra-violet stralen, het bladweefsel met chloordioxid-azijnzuur.

RESUME

La lutte contre les maladies des plantes avec les antibiotiques. — Traitement special des semences contre Ustilago tritici

Etant donné le manque de fongicides appropriés contre les endoparasites comme Ustilago tritici et Ustilago nuda, nous sommes enclins à dire que les produits possédant une action thérapeutique interne méritent notre attention toute spéciale.

I. — Les fongicides systémiques

Des expériences ont été faites et sont poursuivies avec plus d'intensité contre Ustilago tritici et Ascochyta pisi. On effectue ces expériences avec du vert de malachite, du sulfate d'hydroxyquinoléine, de l'acétate de para-nitro-phénol etc. L'examen des granulations et des feuilles nous montre déjà l'effet actif de certains produits sur l'endoparasite.

II. — Les antibiotiques

L'emploi des antibiotiques comme fongicides et bactéricides dans le cas des maladies des plantes est plus récent. Etudiant

les Ustilago spec. nous avons essayé différents antibiotiques, provenant tant de bactéries que d'actinomycètes, de moisissures ou de plantes supérieures.

Certains d'entr'eux nous ont donné d'excellents résultats contre le parasite à l'intérieur de la plante, et nous laissent de larges possibilités d'application tant sur le plan économique que sur le plan technique.

L'humulone ($C_{21}H_{30}O_5$) et la lupulone ($C_{26}H_{38}O_4$), diluées dans l'hexane, nous donnent des germes sans parasites après traitement de semences infectées artificiellement. L'examen microscopique des myceliums internes des semences est fait après un traitement à l'hydroxide; l'examen des feuilles des plantes testées et des plantes témoins se fait soit en recherchant la chitine au moyen de chlorure de zinc iodé, soit par rayons ultraviolets, mais dans les deux cas après un traitement par une solution de dioxyde de chlore dans l'acide acétique.

Comme désinfectants des semences contre Ustilago tritici la nystatine ($C_{46}H_{83}O_{18}$ — 574,712 U/mg.) et l'actinomycine ($C_{41}H_{56}O_{11}N_8$ — ± 1.000 U/mg.) anihilent l'endoparasite.

Avec une solution de nystatine à 500 p.p.m., ou une solution (différente) d'actinomycine à 300 p.p.m., nous atteignons toujours la dose curative pour le froment et l'index d'Ehrlich $\left(\frac{\text{dose curative}}{\text{dose tolérée}}\right)$ reste respectivement en dessous de 1/20 et de 3/10. Lorsqu'on traite à la nystatine, une solution concentrée d'acétate de cellulose (5%) a comme effet de ralentir l'absorption de l'antibiotique. Nous examinons l'absorption et la stabilité des antibiotiques dans les plantes avec le tissu de plantes dans un mycelium sur un milieu de culture, en plaçant une échantillon de tissu foliaire dans une culture de mycelium.

L'agrimycine, un antibiotique double (15% streptomycine — $C_{21}H_{39}N_4O_{12}$ et 1,5% de terramycine — $C_{22}H_{24\text{-}26}N_2O_9.2H_2O$), a des qualités antibactériennes. Employé contre les maladies bactériennes du froment, nous obtenons un parallélisme entre la quantité croissante d'antibiotique d'une part et la dose curative (200 p.p.m.) — stimulation de la croissance — formation d'anthocyane (1.000 p.p.m.) et dose léthale d'autre part.

Les antibiotiques nous donnent des résultats favorables et de larges possibilités d'application comme fongicides directs des maladies des plantes et éventuellement comme produits stimulant la croissance (agrimycine sur froment et pois). Cependant, leur usage excessif a comme conséquence la formation de pigments non-verts et un effet léthal pour les plantes.

SUMMARY

Control of plant-diseases with antibiotics
Special seed-treatment against Ustilago tritici

For lack of effective fungicides with respect to the endoparasites such as Ustilago tritici and Ustilago nuda, products with an internal therapeutic efficacy are deserving particular attention.

I. — Systemic fungicides

Experiments have been made and are conducted in growing number with Malachite-green, Hydroxychinoleine sulphate, Acetate of paranitro-phenol and others against Ustilago tritici and Ascochyta pisi. Grain- and leaf-examination show us already the effective power of some products with regard to the endoparasite.

II. — Antibiotics

More recent however, is the use of the antibiotics as fungicides or bactericides in connexion with plant-diseases. During the study of the Ustilago spec., we have tested several antibiotics, belonging as well to bacteria, actinomycetes, fungi and higher plants.

With a few among them, we have obtained remarkable results, not only efficacious with respect to the parasite in the inner structure of the plant, but allowing large possibilities of application from economic and financial viewpoint as well.

Humulon ($C_{21}H_{30}O_5$) and Lupulon ($C_{26}H_{38}O_4$), dissolved in Hexane, give us after treatment of artificially infected seeds, parasitefree germ-plants. The examination of the internal mycelium of the seeds took place after hydroxyde treatment; of the leaves of the test-and controlplants, either through seeking out of chitine with chlorine zinc iodine, or with ultra-violet rays, each time after treatment with chlorine dioxide acetic acid.

As seed desinfectants against Ustilago tritici, Nystatin ($C_{46}H_{83}O_{18}$ — 574,712 E/mg) and Actinomycin ($C_{41}H_{56}O_{11}N_8$ — $\pm$ 1000 E/mg) radically suppress the endo-parasite. With a Nystatin solution of 500 p.p.m. or an Actinomycin solution (other solvent) of 300 p.p.m., the dosis curativa for wheat is always reached, and the index of Ehrlich $\left(\frac{\text{dosis curativa}}{\text{dosis tolerata}}\right)$ is not more 1/20 resp. 3/10. Using Nystatin the concentrated solution of cellulose-acetate (5%), causes a slower absorption of the antibiotic. The absorption and the stability of the antibiotic in the plant, are tested with leaf-tissue within a culture of mycelium on matrix.

Agrimycin, a double antibiotic (15% Streptomycin — $C_{21}H_{39}N_7O_{12}$ and 1,5% Terramycin — $C_{22}H_{24-26}N_2O_9.2H_2O$), has strongly antibacterial properties. Applied against bacterial diseases on wheat, we obtain a remarkable parallelism between the rising quantity of antibiotic on the one hand, and dosis curativa (200 p.p.m.) — stimulation of growth-formation of anthocyane (1000 p.p.m.) — dosis letalis, on the other.

The antibiotics are giving favourable results and large possibilities of the application as direct means of controling plant-diseases, eventually as growth stimulating products (Agrimycin on wheat and peas); an excessive use, however, will cause the formation of not green pigments and has a lethal effect on the plant.

ZUSAMMENFASSUNG

Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten mit Antibiotika Spezielle Samenbehandlung gegen Ustilago tritici

Mangels zweckmäszige Fungizide gegen Endoparasiten (*Ustilago* sp.) sind Präparate mit Innentherapeutischer Wirkung besonders zu berücksichtigen.

I. — Systemische fungizide

Malachit-Grün, Hydroxychinoleïnesulfat, p. Nitrophenolazetat u.a. wurden geprüft auf *Ustilago tritici* und *Ascochyta pisi*.

II. — Antibiotika

Verschiedene Antibiotika wurden geprüft auf *Ustilago* sp. und es wurden bemerkenswerte Resultate bekommen auf dem Parasit in der Pflanze. Mit *Humulon* und *Lupulon* in Hexanlösung bekommt man Parasitenfreien Keimpflanzen nach Behandlung von künstlich infizierten Samen.

Als Beizen gegen *Ustilago tritici* konnten *Nystatin* und *Actinomycin* den Endoparasit völlig unterdrücken. Mit eine Nystatinlösung von 500 p.p.m. oder eine Actinomycinlösung von 300 p.p.m. erreicht man bei Weizen immer die Dosis curativa und ist der Ehrlich-Index höchstens 1/20 resp. 3/10. Bei der Nystatinbehandlung bekommt man mit der konzentrierten Zelluloseazetat-lösung (5%) eine verzögerte Aufnahme des Antibiotikums.

Mit *Agrimycin* (15% Streptomycin und 1,5% Terramycin) gegen Bakteriënkrankheiten zeigt sich einen bemerkenswerter Parallelismus zwischen den steigenden Wirkstoffmengen und der Dosis curativa (200 p.p.m.), Wachstumstimulus, Anthocyanbildung (1000 p.p.m.) und letale Dosis.

LITERATUUR

1. CERCOS A. P. — Accion Antibiotica de Bacillus Mesentericus sobre Ustilago Maydis y Otros Hongo. Republica Argentina. *Inst. de Fitotechnia. Publ. Technica,* 12, 1948.
2. FREAR DONALD E. H. — Chemistry of the Pesticides.
3. GASSNER G. und NIEMANN E. — Synergistische und antagonistische Wirkung von Pilzen und Bakterien auf die Sporen Keimung verschiedenen Tilletia Arten. *Phytopathologisch Zeitschrift,* Bd. 23, Heft 4, 1955, pp. 394-418.
4. KOHLER HEDWIG. — Einführung in die Methoden der Pflanzlichen Antibiotikaforschung.
5. OORT A. J. P. en DEKKER J. — Inwendige zaadontsmetting met Rimocidine, een antibioticum uit Streptomyces rimosus. *Mededelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent.* Deel XX, nº 3, 1955, pp. 381-388.
6. SCHEERLINCK Prof. dr. H. — Phytopharmacie.
7. SCHEERLINCK Prof. dr. H. — Bijzondere plantenziektenleer.
8. STESSEL G. J., LEBEN C. and KEITT G. W. — Partial Purification and proporties of the Antifungal Antibiotic Toximycin. *Phytopathology* 1, 43, 1953.
9. WAKSMAN S. A. — Les antibiotiques.

PROBLEME DER BEKÄMPFUNG VON PILZPARASITÄREN KEIMLINGSKRANKHEITEN BEI NADELBÄUMEN

von

C. Volger

Universität Göttingen

Das Problem der Bekämpfung pilzparasitärer Keimlingskrankheiten ist bereits seit langem in der Landwirtschaft auf breiter Basis Gegenstand der Forschung. Es ergeben sich hier zwar immer wieder neue Aspekte, aber in der landwirtschaftlichen und gärtnerischen Praxis ist bei aller Vielfalt der Entwicklungsmöglichkeiten das Wesentliche bereits geklärt.

Anders in der Forstwirtschaft. Hier stehen wir erst am Beginn der Forschungsarbeit und die wenigen bisher von der Praxis beschrittenen Wege sind häufig eher geeignet, den Blick für Möglichkeiten der Bekämpfung zu trüben, als das Problem der Lösung näher zu führen, da sie in vielen Fällen zu schwer ausrottbaren Vorurteilen geführt haben, die der sachlichen Grundlagen entbehren.

Der Forstmann räumt im allgemeinen biologischen Abwehr- und Bekämpfungsmassnahmen den Vorzug ein gegenüber den chemischen Möglichkeiten, deren er sich nur ungern und wenn, dann meist zu spät bedient. Teil- und Einzelerfolge werden mit biologischen Massnahmen zuweilen erzielt, und so kommt es zu den immer wieder publizierten Rezepten, die sich zwar auf eine erfolgreiche Anwendung im Einzelfalle begründen, die aber durchaus untauglich zur Anwendung für den Regelfall sind, für den sie empfohlen werden.

Zahlreiche Pilzarten, — beobachtet und beschrieben sind etwa 30 —, kommen als Erreger von Keimlingskrankheiten bei Waldbaumarten in Frage. Ihre Lebensansprüche, bzw. die Optima ihrer Infektionsbedingungen sind so differenziert, dass durch ein Regulieren der Umweltverhältnisse niemals auf genügend breiter Ebene der Angriff gegen Keimlingsmykosen geführt werden kann. Es wird meist nur e i n Glied aus dem Faktorenkomplex der Infektionsvoraussetzungen e i n e r Pilzart durch biologische Massnahmen getroffen. Für den Erfolg dieser Massnahmen ist daher fast immer eine strenge Abhängigkeit von Zeit, Ort, Witterung, Baumart, Pilzart usw. kennzeichnend.

Der Wirkungswert biologischer Massnahmen bekommt ein anderes Gewicht, wenn wir in den Mittelpunkt der Überlegungen nicht den pathogenen Pilz, sondern den Keimling stellen. Jede Beeinflussung der Umweltbedingungen zugunsten des Keimlings, d.h. zur Förderung seiner gesunden Wüchsigkeit, ist eine indirekte Abwehr der Pilzinfektion, da fast alle Erreger Schwächeparasiten sind.

Wenn wir also durch biologische Massnahmen den Keimling zwar direkt fördern können, dem Pilz aber nur selten unmittelbar entgegen wirken, so bleibt für die Erziehung gefährdeten Saatgutes zu gesunden Sämlingen nur die Anwendung *chemischer* Bekämpfungsverfahren, da *mechanische* Massnahmen methodisch nicht befriedigen und die *physikalische* Bekämpfung, die ohnehin durch den erforderlichen Aufwand an Apparaturen und dgl. mehr für den gärtnerischen Betrieb zugeschnitten ist, den Nachteil hat, dass ihre Wirksamkeit zeitlich recht begrenzt ist und dass sie nicht ohne Gefahren für die Biozönose, möglicherweise auch für die Struktur des Bodens ist.

Aus diesen Überlegungen heraus habe ich meine eigenen Untersuchungen auf chemische Bekämpfungsmethoden konzentriert, und zwar zunächst auf Beiz-, Spritz- und Stäubebehandlungen.

Da in Deutschland, und so weit ich orientiert bin, auch in anderen Ländern, bislang noch kein einziges Fungizid speziell gegen f o r s t l i c h e Keimlingskrankheiten bereitgestellt ist, galt es, die für die Landwirtschaft entwickelten Präparate für unsere Zwecke zu prüfen. Schon bei Vorversuchen in Petrischalen und im Gewächshaus ergaben sich nicht vermutete Schwierigkeiten. Die Keimlinge unserer Nadelbaumarten erwiesen sich in vielen Fällen als ungleich empfindlicher als diejenigen der landwirtschaftlichen Gewächse. So zeigte sich von Anfang an, dass Quecksilber-Nassbeizmittel eine verheerend phytotoxische Wirkung beim Keimprozess der untersuchten Baumarten Kiefer, Schwarzkiefer, Fichte und Lärche hatten. Von einer fungiziden Schutzwirkung konnte bei der nun erhöhten Krankheitsbereitschaft keine Rede sein.

Eine besondere Empfindlichkeit zeigte sich auch bei Beizungen mit Chinonpräparaten, die in der Landwirtschaft keineswegs als merklich phytotoxisch gelten. Hier war es weniger eine quantitative als vielmehr eine deutliche qualitative Schädigung, die durch die Mittel bewirkt wurde. Die natürliche Wuchsreaktion der Keimlinge war beeinträchtigt, frühzeitige Wurzelfäule stellte sich ein.

Auch einige Spritz- und Stäubebehandlungen der Keimlinge, — harmlos im landwirtschaftlichen Einsatz, — riefen in der

Anwendung bei Nadelbaumarten Nadelschäden hervor, zumal wenn der Keimling in einer labilen Entwicklungsphase war; Pilzkrankheiten pflegten dann meist schnell zu folgen, ohne etwa kausal die Nadelerkrankungen bedingt zu haben.

Kupferpräparate, sowohl auf Kupferoxydul- als auch auf Kupferchloridbasis, erwiesen sich als unwirksam im Einsatz bei Keimlingsmykosen der Nadelbaumarten.

Schon aus diesen wenigen Erfahrungen, deren Schilderung keineswegs das Thema erschöpft, ergibt es sich zwangsläufig, dass landwirtschaftliche Präparate gegen Keimlingskrankheiten nicht ohne Prüfung in einem exakten Versuch in die forstliche Praxis übernommen werden sollten; mögen die Schutzmittel im landwirtschaftlichen und gärtnerischen Einsatz, für den sie einzig entwickelt sind, auch noch so bewährt sein.

Eine zweite Einsicht, die man bald durch Erfahrung gewinnt, ist die, dass die meisten der landwirtschaftlichen Beizmittel bei weitem z e i t l i c h nicht für unseren forstlichen Gebrauch ausreichen. Fast alle Präparate begrenzen ihre Wirksamkeit auf drei bis fünf Wochen. Der landwirtschaftliche Keimling hat dann die Phase der Anfälligkeit gegen Keimlingskrankheiten überwunden. Die forstlichen Nadelbaumarten dagegen b e g i n n e n im allgemeinen erst nach etwa drei Wochen mit der Keimung und wachsen nun in die Gefahrenzeit hinein, die praktisch beinahe die ganze Vegetationszeit über andauert. Hier liegt das grösste Problem. Wir brauchen für die forstliche Praxis ein Beizpräparat, das nicht nur eine Initial- sondern auch eine Dauerwirkung hat, die mindestens so lange anhalten muss, bis das Gros der Keimlinge über dem Boden ist, so dass durch eine Keimlingsbehandlung der weitere Schutz der jungen Pflanzen besorgt werden kann.

Im vorigen Sommer habe ich nun eine Serie von Versuchen zu diesen Fragen eingeleitet, von denen einer hier besprochen werden soll. Die Versuchsanlage wurde mit 15 Präparaten (siehe Tab. 1) und einer Kontrolle im 4×4 balancierten Gitter mit 5 Wiederholungen durchgeführt. Ich musste mich auf *eine* Baumart, die Kiefer, beschränken. Sie ist relativ empfänglich für Keimlingskrankheiten und durch eine hohe Keimfähigkeit zudem für Versuchszwecke sehr geeignet. Das Substrat war bereits aus vorjährigem Gebrauch in einem Saatbeet mit Rhizoctonia-, Fusarium- und Botrytis-Arten verseucht und wurde noch zusätzlich mit Pythium de Baryanum infiziert. Der Versuch wurde während seiner ganzen Dauer von Mitte Mai bis Mitte August schattiert und an den wenigen regenfreien oder regenarmen Tagen des Sommers reichlich und häufig mit Leitungswasser übersprüht, da ich durch hohe Feuchtigkeit hoffte, günstige Infektionsbedingungen schaffen zu können. Hiervon wird später noch die Rede sein.

Die ersten sichtbaren Erkrankungen, — ein echtes Umfallen

(damping off) durch Pythium de B. oder eine Rhizoctonia-Art hervorgerufen, — traten nach dreiwöchiger Versuchsdauer an kaum gekeimten Pflanzen auf und zwar zunächst quantitativ minimal. Etwa 14 Tage später gab es drei neue Krankheitsbilder : Einige Keimlinge zeigten Befallserscheinungen in der Mitte des Stämmchens und knickten hier ab (Erreger Botrytis); bei anderen, meist weniger weit entwickelten, äusserte sich der Befall im obersten Teil des Stämmchens kurz unter der Samenschale, die der Keimling oft nicht mehr die Kraft hatte abzustreifen (Fusarium spec. od. Botrytis); die dritte Krankheit begann mit einem Erschlaffen, es folgte ein schnelles Vergehen des ganzen Keimlings. Nach etwa 7 wöchiger Versuchsdauer trat durch Botrytis cinerea eine Erkrankungsform auf, die ich noch nie beobachtet hatte. Bei gesund und kräftig wirkenden Keimlingen wurde der Vegetationspunkt befallen; die Erkrankung griff dann meist schnell und radikal auf die Primärnadeln über und verlief tödlich. Ich möchte übrigens betonen, dass Botrytis an Nadelbaumkeimlingen agressiver auftreten kann, als man gemeinhin vermutet; auch an Kiefern, deren Primärnadeln durch ihren Wachsüberzug angeblich geschützt sein müssten.

Bis zum Abbruch des Versuches nach fast 1/4 jähriger Dauer gab es zwar immer noch neue Krankheitsfälle; auf die ganze Periode gesehen war jedoch die Zahl der erkrankten Individuen bei behandelten und Kontroll-Töpfen trotz künstlicher und natürlicher Infektion so gering, dass sich gewisse Schwierigkeiten bei der Auswertung ergaben, die daher weniger statistisch gesicherte Ergebnisse liefern konnte, als erwartet.

Die Varianzanalyse der Keimlingszahlen bewies, dass durch die Präparateinwirkungen eine quantitative Beeinflussung der Keimung gegeben war und zwar im günstigen Sinne einer Steigerung. Vergleicht man allerdings die Einzelwerte der Präparate mit der Kontrolle durch den t-Test, so ergeben sich keine statistisch verbürgten Unterschiede mehr, da die Zahl der Merkmalsträger geringer ist.

Ich habe aus den t-Test-Werten immerhin eine Rangordnung der Versuchsglieder aufstellen können, die dadurch an Bedeutung gewinnt, dass sie viele Parallelen zu der Rangordnung aufzuweisen hat, die sich aus den t-Test-Werten der Krankenstatistik ergibt, in der die Extremwerte gesichert sind (siehe Tab. 2).

Die Gruppe der Chinonpräparate schneidet hierbei am schlechtesten ab. Ausser dem Präparat Cerenox Spez., bei dem die Wirkstoffe Chinon und Quecksilber kombiniert vorliegen, gehören sämtliche Chinonpräparate in beiden Rangordnungen zur schlechteren Hälfte der Versuchsglieder, in der Krankenstatistik ist ihre schlechte Leistung gegenüber der Kontrolle für Phygon und Cerenox statistisch verbürgt.

Die Quecksilberpräparate, — als Nassbeizen wurden sie in den Versuch nicht mehr mit aufgenommen —, reichen nach keiner Richtung hin in die Extremgruppen, sondern liegen ohne mathematisches Gewicht in der Mittelgruppe. — Das einzige Captanpräparat blieb ebenfalls indifferent. — Das Präparat mit dem Wirkstoff Chlornitrobenzol liegt in der Krankenstatistik verdächtig schlecht. — Zineb als Beizmittel war unwirksam, als Stäube- und besonders als Spritzmittel schnitt es dagegen gut ab, wenn der Erfolg auch im beschriebenen Versuch nicht statistisch gesichert war, vermutlich wegen der allgemein geringen Befallsprozente; in einem anderen Versuche zeigten sich aber beide Behandlungen als der Kontrolle verbürgt überlegen. — Auch das Chinosol blieb in diesem Versuche uncharakteristisch, bewies aber ebenfalls in einem anderen Versuch mit der Baumart Douglasie eine echte fungizide Wirkung.

Von ausgezeichnetem Erfolg, durch eine signifikante Differenz gesichert, war das holländische TMTD-Präparat Tripomol, dem in der Tendenz ein zweites TMTD-Präparat ähnelte, aber nicht gleichkam. Tripomol befriedigte nicht nur in seinem fungiziden Erfolg schlechthin, sondern ganz besonders dadurch, dass seine günstige Wirkung 11 Wochen lang bis zum Abbruch des Versuches fast unvermindert anhielt.

Ich weiss, dass ich jetzt heisses Eisen anrühre, wenn ich die Vermutung ausspreche, dass das Beizmittel Tripomol eine systemische Wirkung auszuüben vermag. Ich sagte vorhin, dass etliche der Erkrankungen erst viele Wochen nach der Aussaat auftraten, so besonders der Botrytis-Befall der Vegetationspunkte. Keiner der Tripomol-Keimlinge zeigte ein Symptom dieser, noch einer anderen Botrytis-Infektionsform. Es ist unwahrscheinlich, dass jede Infektion schon durch die Tripomol-Beizung als solche verhütet wurde, dass also alle später auftretenden Erkrankungen soil-borne oder seed-borne waren. Man würde damit bei Nadelbaumarten ja eine Ausbreitungsresistenz gegen Botrytis oder eine ruhende Infektion von 7 bis 8 Wochen und mehr voraussetzen, da anders behandelte Keimling n a c h dieser Zeitspanne erkrankten, während in der Literatur festgestellt wird, dass bei ausgesäten Konidien nach ca 15, höchstens 30-40 Std. die Infektion bewirkt wird. Ich kann mir die Dauerwirkung des Tripomols nicht anders erklären, als dass das Präparat innertherapeutisch wirkte und dass hierauf der Anwendungserfolg beruhte.

Ich sagte bereits, dass in meinem Versuch die Zahl der erkrankten Individuen trotz aller Bemühungen um eine optimale Gestaltung der Infektionsbedingungen niedrig lag. Die Massnahmen, — dauerndes Schattieren, Schaffung einer hohen Boden- und Luftfeuchtigkeit — waren offenbar untauglich. In unmittelbarer Nachbarschaft meines Versuchsfeldes befand sich eine

andere Saatbeetanlage unseres Institutes mit anderen Versuchszielen. Hier traten Keimlingserkrankungen in grossem Umfange auf. Diese Beete wurden nur bei direkter Sonneneinstrahlung schattiert und entsprechend den allgemein beherzigten Regeln der Praxis „nicht zu feucht" gehalten. Ich neige nun zu der ketzerischen Ansicht, dass ein ständiges Feuchthalten bei einem gut durchlüfteten Substrat dem Keimling weitaus bekömmlicher ist. Lässt die Resistenz der Keimlinge durch unzureichende Wasserzufuhr auch nur kurzfristig nach, so eröffnen sich dem pathogenen Pilz ganz andere Infektionsmöglichkeiten als bei vollturgeszenten Keimlingen.

Ich habe ferner auf meinem Versuchsfeld die Beobachtung machen können, dass bei regelmässig optimaler Wasserversorgung — sie liegt bei unseren Baumarten hoch — eine Regeneration von durch Fäulnis vergangenen Wurzeln möglich ist, ein Vorgang, der sich ohne Schwierigkeiten in vitro wiederholen lässt. Es kann also unter der Bodenoberfläche ein vollständiger Infektionsvorgang mit den Reaktionen der Erkrankung durch Rhizoctonia, Pythium etc. sich abspielen, der oberirdisch gar nicht wahrzunehmen ist.

Zusammenfassend darf ich sagen, dass wir in der Forstwirtschaft erst beginnen, uns den Problemen der Keimlingsmykosen zuzuwenden. Wir sind zwar abhängig von der Anwendung landwirtschaftlicher Präparate, müssen uns aber hüten, selbst die landwirtschaftlich mit Erfolg eingesetzten Schutzmittel kritiklos zu übernehmen; sie können sowohl nutzlos durch eine zu kurze Wirkungsdauer, als auch phytotoxisch für forstliche Keimlinge sein. Als Mittel von befriedigender Wirksamkeit und Dauer zeigte sich das Beizpräparat Tripomol-TMTD, bei dem ich eine systemische Wirkung vermute. Wesentlich für eine biologisch richtige Behandlung forstlicher Saatbeete zu Gunsten der Keimlinge scheint zu sein, dass die alte Regel der Praxis : „nicht zu feucht halten" weniger ängstlich befolgt und statt dessen eine *optimale* Wasserversorgung der Keimlinge gefordert wird.

TABELLE 1

Präparat	*Wirkstoff*	*Anwendung*	*Hersteller*
Dithane	Zineb	Stäuben der Keimlinge	Cela(1)
Dithane	Zineb	Beizung des Saatgutes	Cela
Dithane	Zineb	Spritzen der Keimlinge	Cela
Brassicol	Chlornitrobenzol	Stäuben der Keimlinge	Farbwerke Hoechst (1)
Chinosol	Chinolin	Spritzen der Keimlinge	Chinosolfabrik (1)
Tiulin	TMTD	Beizung des Saatgutes	Farbenfabriken Bayer(1)
Phygon × L50+3% DDT	Chinon	Beizung des Saatgutes	Fabr. v. Chem. Prod.(2)
Spergon 93 + 3% DDT	Chinon	Beizung des Saatgutes	Fabr. v. Chem. Prod.
U.T. 685 LW	Quecksilber	Beizung des Saatgutes	Farbenfabriken Bayer
Tripomol	TMTD	Beizung des Saatgutes	Fabr. v. Chem. Prod.
Agronex Plus	Quecksilber+Lindan	Beizung des Saatgutes	Cela
Cerenox	Chinon	Beizung des Saatgutes	Farbenfabriken Bayer
Cerenox Spez.	Chinon+Quecksilber	Beizung des Saatgutes	Farbenfabriken Bayer
Ceresan Trockenbeize	Quecksilber	Beizung des Saatgutes	Farbenfabriken Bayer
Orthocid — 75	Captan	Beizung des Saatgutes	Farbenfabriken Bayer
Kontrolle			

(1) in Deutschland
(2) in den Niederlanden

TABELLE 2
RANGORDNUNG

Keimlingszahlen			Krankenstatistik	
äparatname	*Wirkstoff*		*Wirkstoff*	*Präparatname*
		↑ schlechter als Kontrolle	Chinon	Phygon × L50+DDT (1)
			Chinon	Cerenox (1)
			Chlornitrobenzol	Brassicol
			Chinon	Spergon 93 + DDT
			Zineb	Dithane Bzg.
			Quecksilber	Ceresan Tr.
			Chinolin	Chinosol Spr.
			Zineb	Dithane Stb.
inosol	Chinolin		Captan	Orthocid
renox	Chinon		Quecksilber+Lindan	Agronex Plus
		KONTROLLE		
ygon × L50+DDT	Chinon	besser als Kontrolle ↓	Chinon+Quecks	Cerenox Spez
resan Tr.	Quecksilber		TMTD	Tiulin
renox Spez.	Chinon+Quecksilber		Quecksilber	U.T. 685 LW
ergon 93 + DDT	Chinon		Zineb	Dithane Spr.
thane Bzg.	Zineb		TMTD	Tripomol (1)
ipomol	TMTD			
T. 685 L.W.	Quecksilber			
thane Stb.	Zineb			
ronex Plus	Quecksilber + Lindan			
thocid	Captan			
ulin	TMTD			
thane Spr.	Zineb			

(1) mit signifikanter Differenz

RESUME

Problèmes dans la lutte contre les Champignons Parasites des plantules de Conifères

En sylviculture l'on se trouve souvent devant des difficultés inattendues dans la lutte contre les maladies cryptogamiques des plantules. Si l'application de fongicides de valeur y a un retard certain sur la sylviculture, il faut en chercher la cause non seulement dans la méfiance presque proverbiale du sylviculteur vis à vis de l'emploi de produits chimiques, mais surtout dans le fait que les produits sur le marché ont été développés à l'intention de l'agriculture et de l'horticulture. Très souvent l'activité résiduelle n'est pas suffisante, surtout des désinfectants de semences, ou bien l'on constate des effets phytotoxiques qui n'étaient pas apparus en agriculture.

Toutefois les mesures biologiques, mécaniques et physiques que l'on peut prendre contre ces maladies, s'avèrent parfois insuffisantes et on en est réduit à l'emploi des produits phyto-pharmaceutiques. Mais il est nécessaire de faire précéder leur emploi dans la pratique par des essais très poussés.

Un tel essai est décrit ici et les résultats en sont commentés. Pour certaines préparations on a constaté des divergences importantes de l'expérience acquise en agriculture. Un des produits semble posséder des propriétés systémiques.

Il est à noter que le fait de pourvoir soigneusement aux besoins en eau des plantules, qui sont d'ailleurs assez élevés, augmente leur résistance à l'attaque de ces parasites.

SUMMARY

Problems in the control of fungi attacking pine seedlings

Unexpected difficulties are often encountered in the control of seedling diseases in forestry. The introduction of fungicidal chemicals is proceeding at a very slow rate, partly because of the well-known reluctance for introducing the use of chemicals in forestry, but mainly because the formulations, having been developed for use in agriculture and horticulture, are not always suited for use in sylviculture. In many cases the residual action, especially of seed-dressings, is insuffient or one finds compounds,

which were considered safe in agricultural practice, producing phytotoxic symptoms.

The results of the biological, mechanical and physical measures which can be taken against those parasitic fungi, are not always satisfactory so one must eventually rely on chemical control. The compounds to be used however must be very thouroughly tested before their application in the field.

Such an experiment is described and the results are discussed. Some of the preparations tested showed remarkable discrepances from what was known in agricultural practice. One compound appeared to possess systemic properties.

Supplying the seedlings with their optimum water requirements, which are fairly high, increases their resistance towards pathogenic fungi.

Prof. Dr. Oort, Nederland

V : In Beziehung auf den Vortrag von Herrn van der Spek über die Botrytis-Krankheit des Leins wäre es interessant zu wissen ob Botrytis bei Pinus von den Samen stamme oder aus den Boden hervorkommt.

A : Die Botrytis-Infektion bei Pinus kann sowohl vom Boden aus als auch vom Saatgut aus erfolgen. In dem hier problematischen Falle aber erfolgt sie jedoch höchst wahrscheinlich aus der Luft. 8-10 Wochen alte Keimlinge erkrankten, und zwar begann der Infektionsweg offensichtlich am Vegetationspunkt. Nach den Primärnadeln wurden schnell die Kotyledonen und dann das Stämmchen befallen.

HET ONDERZOEK OVER DE POPULIERENKANKER VEROORZAAKT DOOR PSEUDOMONAS SYRINGAE V. HALL F. SP. POPULEA SABET

door

G. van den Ende

Phytopathologisch Laboratorium „Willie Commelin Scholten"
Baarn (Nederland)

1) De verwekker van de ziekte

In 1935 werd een begin gemaakt met het onderzoek over de populierenkanker op het Phytopathologisch Laboratorium „Willie Commelin Scholten" te Baarn op initiatief van de Nederlandse Heidemaatschappij. Daar reeds eerder op dit laboratorium schimmels uit kankers geisoleerd waren, werden deze aanvankelijk bij het onderzoek betrokken. Inoculatie-proeven werden verricht met *Nectria coccinea, N. galligena* en *Botryodiplodia penzigii*. Met deze schimmels konden inderdaad ziektesymptomen verkregen worden. Er ontstonden op de inoculatieplekken open wonden omgeven door een gladde callusrand, die door Koning (1937) schimmelkankers genoemd werden. De inoculaties, die in de herfst verricht werden, gaven de beste resultaten.

Intussen vond zij echter op *P. brabantica* Houtz. slijm, dat door spleetjes en openingen in de schors naar buiten kwam. Dit slijm bleek verschillende soorten bacteriën te bevatten. Bij inoculatie van dit ruwe slijm in een vatbare boom werden de symptomen verkregen, zoals deze in de natuur gevonden worden, namelijk zich steeds uitbreidende kankers met zeer onregelmatige callusranden. De inoculaties moesten verricht worden tussen half april en half juni wilden zij enige positieve resultaten opleveren.

Ook was Koning (1937 en 1941) in staat een bacterie uit dit slijm te isoleren, die sterk ziekteverwekkende eigenschappen voor de populier bleek te bezitten. Zij noemde de bacterie *Pseudomonas rimaefaciens* Kon. De symptomen, die hiermee ontstonden, duidde zij aan met „Rimaefacienskankers". Zij kwamen echter niet overeen met de kankers veroorzaakt door het ruwe slijm, doch veeleer met de zgn. schimmelkankers, daar ook hierbij de wond met een gladde rand omzoomd werd. Een verschil tussen de „Rimaefacienskankers" en de schimmelkankers was gelegen in

de tijd gunstig voor inoculatie en de optredende symptomen. De inoculaties met *Ps. rimaefaciens* sloegen alleen aan als zij in het voorjaar verricht werden. Een snel afsterven van de jonge twijgjes boven de inoculatieplek was het gevolg, terwijl dit bij de schimmelkankers nooit gevonden werd. De ontstane wonde, ten gevolge van de inoculaties met deze bacterie, breidden zich echter nimmer uit in de volgende jaren.

In 1946 isoleerde Lansade (1946) uit het slijm een bacterie, die hij *Pseudomonas syringae* v. Hall noemde. Hij was echter evenmin in staat door inoculatie met deze bacterie de symptomen op te wekken, zoals zij in de natuur gevonden worden. Dit weet hij aan de weersomstandigheden gedurende de winter volgend op de inoculatie.

Sabet c. s. (1952 en 1953) isoleerde uit het ruwe slijm een bacterie, die hij *Pseudomonas syringae* v. Hall *f. sp. populea* noemde, daar hij een verschil in pathogeniteit kon aantonen tussen de verwekker van de populierenkanker en de ziekteverwekker, die het afsterven van de knoppen bij de sering te weeg brengt. Inoculaties met reincultures van deze bacterie gaven ook slechts symptomen, die zich niet verder ontwikkelden. Een suspensie van de reincultuur in steriel slijmfiltraat gaf echter na inoculatie blijvende symptomen, die overeenkwamen met die van in de natuur gevonden kankers.

In 1952 werden te Baarn nogmaals vier bacteriestammen uit *Populus tremula gigas* geïsoleerd, die sterk pathogeen voor de populier bleken te zijn. Inoculaties hiermee verricht in de kas op bewortelde stek van *Populus brabantica* had een verwelken van de jonge twijgen ten gevolge. De bladsteel en bladnerven werden zwart, waarna het blad verwelkte en afstierf. Na drie dagen werden reeds aangetaste bladeren 25 cm boven de inoculatieplek gevonden. Injecties van twee- en driejarige takken van jonge bomen gaven steeds na 10 — 14 dagen een afsterven van de jonge twijg boven de inoculatieplaats. Op het hout ontstond een open wonde van 2 — 9 cm lengte, die echter steeds heelde of in geen geval zich uitbreidde in de volgende jaren. Determinatie van deze bacteriestammen toonde practisch geen verschillen aan tussen deze bacterie en *Ps. syringae f. sp. populea* geïsoleerd door Sabet. Elk van deze bacteriestammen tesamen geinoculeerd met steriel slijmfiltraat gaven echter wel de vorming van typische kankers. Het steriele slijm alleen gaf, na injectie in de boom, slechts een geringe toxische werking op de plaats van inoculatie. Het slijm bestaat voor het grootste gedeelte uit koolhydraten, bovendien werden er enige aminozuren in aangetoond o.a. asparaginezuur. De rol van het slijm is nog onbekend. Het verband tussen de kankerverwekkende bacterie en het slijm dienen nader onderzocht te worden. De bacteriestammen konden niet langer dan twaalf maanden in reincultuur gehouden worden. Er zal nog naar een andere kweekmethode voor de bacterie gezocht moeten worden.

2) Toetsing van het aanwezige Populierensortiment

Aangezien de bacteriekankers, zoals deze veroorzaakt worden door het ruwe slijm, het meest te velde voorkomende kankertype is, werd het aanwezige populierensortiment op zijn vatbaarheid getoetst door middel van dit ruwe slijm. Stukjes schors met wat slijm werden in water gebracht, zodat er een bacteriesuspensie ontstond. Deze suspensie werd tussen half april en half juni in de stam of een tak van de te onderzoeken boom gespoten. Het controleren van de inoculaties vond aanvankelijk plaats in de herfst van hetzelfde jaar. De resultaten die uit deze proeven verkregen werden, waren nogal verrassend. *P. marilandica, P. serotina* en *P. deltoides missouriensis* werden na inoculatie soms vrij sterk aangetast, ofschoon ze in de practijk vrij bleven van de bacteriekanker. *P. gelrica, P. serotina erecta* en *P. nigra italica* waren resistent. Bovendien bleken de resultaten in achtereenvolgende jaren sterk te verschillen.

3) Toetsing van kunstmatig verkregen kruisingsproducten

Vanaf 1944 werden naast ingevoerde populierensoorten en -variëteiten ook kunstmatig verkregen kruisingsproducten op hun vatbaarheid onderzocht. De eerste kruisingen werden verricht op het Laboratorium voor Erfelijkheidsleer te Wageningen. De kruisingen met *P. nigra, P. nigra italica* en *P. marilandica* leverden de beste resultaten op. Zodra echter *P. trichocarpa* als een der ouders optrad, was de vatbaarheid der nakomelingen zeer groot. Later ging het kruisingswerk over naar het Bosbouw Proefstation TNO. Vele kruisingen van dit Proefstation afkomstig werden op hun vatbaarheid onderzocht. Ook deze resultaten bevestigen dat de kruisingen met *P. nigra* of *P. nigra italica* het hoogste percentage resistente zaailingen opleveren. (Brink 1949; Brink en v. d. Ende 1951; v. d. Ende 1953, 1955 en 1957).

4) De invloed van de uitwendige omstandigheden op de ontwikkeling van de ziekte

Daar de resultaten van de inoculaties per jaar zo verschilden, werd in de laatste tijd aandacht besteed aan de omstandigheden waaronder de inoculaties plaats vonden. In sommige jaren bleek dat bij een lage temperatuur in de maand december een geringere aantasting optrad dan bij een hogere temperatuur in die maand. Of de weersomstandigheden tijdens de inoculatie van invloed zijn valt nog niet met zekerheid te zeggen. Wel lieten de resultaten van de inoculaties, verricht in de droge zomer van 1947 op zich wachten totdat de omstandigheden veranderd waren. Om de invloed van temperatuur en vochtigheid op het optreden van de aantasting te kunnen nagaan, zullen inoculaties verricht moeten worden onder zoveel mogelijk geconditioneerde omstandigheden.

Daar het ruwe slijm jaarlijks opnieuw verzameld wordt, om met vers slijm de inoculaties te kunnen verrichten, bestaat de mogelijkheid dat ook door variatie in kwaliteit van het slijm verschillen in de resultaten ontstaan. Er dient daarom naar gestreefd te worden dat het inoculum, dat in de verschillende jaren voor inoculatie gebruikt wordt, zo uniform mogelijk is.

5) **De beoordeling van de inoculaties in verband met de vatbaarheid van de boom**

Sommige zaailingen schijnen met de toename der leeftijd vatbaarder, andere juist resistenter te worden. De tijd verstreken tussen de inoculatie en het controleren ervan is van grote invloed op de beoordeling van de vatbaarheid van de zaailing. Nu rijst natuurlijk direct de vraag, wanneer moeten wij nu een boom als vatbaar beschouwen? Een soort waarbij blijkt dat de aantasting steeds sterker wordt ten gevolge van een inoculatie, kunnen we zeker als vatbaar beschouwen. Dit ziet men dan ook bij bepaalde soorten en hybriden, die dus geen twijfel laten omtrent hun vatbaarheid. Deze sterke ontwikkeling van het ziekteproces in de loop van de jaren, zien we bij *P. brabantica* en *P. candicans*, twee zeer vatbare soorten. Bij *P. brabantica* trad de kankervorming al in het jaar van inoculatie op en deze ontwikkelde zich verder met slijmvorming. Een boom die na een, twee of drie jaar in staat is de parasiet te overwinnen en de wonde te helen, moeten we tot de veldresistente soorten rekenen. Zo trad bij *P. gelrica* en *P. serotina erecta* in het eerste jaar na de inoculatie een begin van kankervorming op, maar deze overgroeide weer in het tweede jaar. Wij mogen aan deze gegevens nog geen al te grote waarde hechten, maar het blijkt op grond van dergelijke reacties noodzakelijk het ziekteproces langer en nauwkeuriger te vervolgen, zo mogelijk onder gecontroleerde omstandigheden.

Aangezien de resistentie van een zaailing niet in één jaar kan worden vastgesteld, is het beter de kruisingsproducten eerst op hun groei- en andere eigenschappen te beoordelen. Daarna kan dan van de meest belovende een aantal stekken genomen worden, die vervolgens op hun vatbaarheid getoetst moeten worden. Dit heeft tevens het voordeel dat deze voordien reeds aan een natuurlijke infectie blootgesteld zijn.

SAMENVATTING

Een overzicht wordt gegeven over het onderzoek naar de populierenkanker verricht sinds 1935. De ziekte wordt veroorzaakt door een bacterie *Pseudomonas syringae* v. Hall *f. sp. populea* Sabet. Inoculaties met reincultures van de bacterie geven niet dezelfde symptomen als een natuurlijke infectie te weeg brengt. Een suspensie van de bacterie in steriel slijm geeft na inoculatie wel dezelfde symptomen.

Met de gebruikte inoculatie-methode, d.i. injectie van ruw slijm in stam of takken van de boom, werden in achtereenvolgende jaren wisselende resultaten verkregen. Zelfs veldresistente bomen waren in sommige jaren vatbaar of matig vatbaar. Waarschijnlijk zijn de weersomstandigheden van invloed op het resultaat van de inoculaties, bij voorbeeld de temperatuur in de maand December volgend op de inoculatie.

Ook de tijd verlopen tussen de inoculatie en het controleren daarvan is van belang bij de beoordeling van de aard van de resistentie.

Bij kunstmatige kruisingsproducten vertoont het nageslacht van sommige ouders, o. a. *P. nigra* en *P. nigra italica*, altijd een hoog percentage resistente zaailingen.

Gezien de vele aspecten van dit probleem is een nauwe samenwerking zeer wenselijk tussen alle onderzoekers, die zich met deze problemen bezig houden.

SUMMARY

Research on bacterial poplar canker

A survey is given of the research on poplar canker performed since 1935. The disease is caused by the bacterium *Pseudomonas syringae* v. Hall *f. sp. populea* Sabet. Inoculations with pure cultures do not cause cankers with the same symptoms as they occur in nature.

With the inoculation method in use, i. e. injection of rough slime into the stem or branches, varying results were obtained in different years. Even field resistent trees showed themselves susceptible or moderately susceptible in some years.

Probably climatic factors are of influence on the result of inoculations, e. g. the temperature in December.

Also the time of assessment of the results is very important for obtaining reliable figures. Some poplars, e. g. *P. brabantica* showed cankers increasing in size during the years following

inoculation, others e. g. *P. serotina* only showed symptoms in the first year after inoculation.

Some parents e.g. *P. nigra* and *P. nigra italica* always show a high number of resistant seedlings in their progeny.

LITERATUUR

BRINK, G. — 1949. Verslag van het onderzoek naar de populierenkanker in 1947. *Meded. Ned. Heidemij* 8, 1-10.

BRINK, G. & VAN DEN ENDE, G. — 1951. Verslag van het onderzoek naar de populierenkanker in 1948 en 1949. *Meded. Ned. Heidemij* 13, 1-15.

VAN DEN ENDE, G. — 1953. Verslag van het onderzoek naar de populierenkanker in 1950 en 1951. *Meded. Ned. Heidemij* 16, 1-19.

VAN DEN ENDE, G. — 1955. Verslag van het onderzoek naar de populierenkanker in 1952 en 1953. *Meded. Ned. Heidemij* 21, 1-19.

VAN DEN ENDE, G. — 1957. Het onderzoek naar de populierenkanker veroorzaakt door Pseudomonas syringae f. sp. populea. *Ned. Boschb. Tijdschr.* 29, 101-109.

KONING, H. C. — 1937. Verslag van het onderzoek naar de populierenkanker 1936 en 1937. *Tijdschr. Ned. Heidemij* 49, 445-449.

KONING, H. C. — 1941. Verslag van het onderzoek naar de populierenkanker 1940-1941. *Tijdschr. Ned. Heidemij* 53, 393-399.

LANSADE, M. — 1946. Recherches sur le chancre du peuplier. *Ann. Epiphyties XII*, 23-39.

SABET, K. A. & DOWSON, W. J. — 1952. Studies in the bacterial die-back and canker disease on poplar. *Ann. Appl. Biol.* 39, 609-616.

SABET, K. A. — 1953. Studies in the bacterial die-back and canker disease on poplar. *Proc. Soc. Appl. Bact.* 16, 54-55.

Fig. 1 en 2. — Slijmpropjes op Populus tremula L. verzameld in de duinen bij Castricum (N. H.).

Bacterial exudate on Populus tremula L. gathered in the dunes near Castricum (N. H.).

Fig. 3. — Kanker veroorzaakt door inoculatie van ruw slijm in P. candicans Ait.

Foto genomen ongeveer anderhalf jaar na de inoculatie.

Canker caused by inoculation of rough slime in P. candicans Ait.

Picture made about one and a half year after inoculation.

Fig. 4. — Tak van P. brabantica Houtz. geinoculeerd met een reincultuur van de bacterie.

Foto genomen ongeveer anderhalf jaar na de inoculatie.

Branch of P. brabantica Houtz. inoculated with a pure culture of the bacterium.

Picture made about one and a half year after inoculation.

DE INVLOED DER UITWENDIGE OMSTANDIGHEDEN OP HET EFFECT VAN DE ONTSMETTING VAN LIJNZAAD

door

J. van der Spek*
Nederlands Vlasinstituut

Inleiding

Uit een vergelijkend onderzoek naar het effect van zaadontsmetting tegen de grauwe schimmel (Botrytis) met het antibioticum P, dat voor kort door de Koninklijke Nederlandse Gist- en Spiritusfabrieken is ontdekt, bleek, dat de mate waarin de bakjes begoten worden van doorslaggevende betekenis is op het resultaat.

Alvorens hier verder op in te gaan moet duidelijkheidshalve eerst in het kort het ontstaan van de eerste zieke planten en het verloop van de grauwe schimmel als jeugdziekte beschreven worden.

De eerste infectie en het verloop van de jeugdziekte**

Uit proeven en praktijkwaarnemingen van schrijver is gebleken, dat het zaad de belangrijkste infectiebron is. De schimmel bevindt zich als mycelium in de buitenste lagen van de zaadhuid; voor het grootste deel in de slijmepidermis — die na vochtopname stuk scheurt, waardoor het slijm het zaad vrij omgeeft — en voor een kleiner deel in de daarbinnen gelegen parenchymlagen.

Na het uitzaaien van niet ontsmet geïnfecteerd zaad gaat het mycelium in de zaadhuid van de latente in de actieve toestand over. Het mycelium groeit vanuit de zaadhuid, die meestal in de grond achterblijft (epigaeïsche kieming!), in de omgevende grond en dringt het ondergrondse deel van het hypocotyl binnen; de plant is nu aangetast.

De uitbreiding van de ziekte, waardoor eerst schade ontstaat, vindt plaats vanaf de kiemplanten, die vanuit het zaad zijn geïnfecteerd. Vanuit deze planten groeit mycelium over een korte afstand oppervlakkig in en over de grond waardoor een buurplant basaal

(*) Gedetacheerd op het Laboratorium voor Phytopathologie, Wageningen.
(**) Wordt uitvoeriger gepubliceerd in *Technical Bulletin of the International Confederation of Flax and Hemp* 1957, n° 2.

aangetast kan worden, etc. Op deze wijze wordt een rijtje planten ziek. In tegenstelling tot de heersende opvatting spelen de sporen bij de uitbreiding geen directe rol.

Uit proeven van schrijver is verder gebleken, dat de vochtigheid van het bovenste laagje van de bouwvoor — in verband met neerslag, zonneschijn en bodemeigenschappen — de belangrijkste factor is bij het optreden van de grauwe schimmel als jeugdziekte in vlas. Een hoge bodemvochtigheid begunstigt haar optreden in sterke mate, terwijl de ziekte daarentegen vrijwel geheel achterwege blijft, als het bovenste laagje van de bouwvoor droog is.

Na het uitzaaien van ontsmet zaad gaat het mycelium in de zaadhuid eveneens van de latente in de actieve toestand over, althans voor zover het niet direct door het fungicide gedood wordt.

Dit laatste zal met de huidige ontsmettingsmiddelen alleen het geval kunnen zijn bij het meer naar buiten gelegen mycelium.

Het ontsmettingsmiddel belet nu het nog levende mycelium om vanuit de zaadhuid in de omgevende grond te groeien. Als gevolg hiervan worden weinig of geen planten vóór de opkomst door de schimmel gedood. De opkomst is mede hierdoor aanzienlijk beter dan van niet ontsmet zaad.

Toch kan, zoals uit proeven van schrijver gebleken is, onder vochtige omstandigheden een groter of kleiner deel van het mycelium, dat in de zaadhuid aanwezig is, na verloop van tijd nog uitgroeien en een infectie veroorzaken.

Om een vrij sterke aantasting tot gevolg te hebben is het noodzakelijk, dat de vochtige periode na het uitzaaien van ontsmet zaad aanzienlijk langer duurt dan bij het gebruik van niet ontsmet zaad. Waarschijnlijk moet het ontsmettingsmiddel eerst praktisch geheel verdwenen zijn, alvorens het nog levende mycelium, dat zich in de buitenste lagen van de zaadhuid bevindt, kan uitgroeien en de jonge plant kan infecteren. Als het zaad niet ontsmet is, kan het mycelium daarentegen onmiddellijk uitgroeien.

Het verdwijnen van het ontsmettingsmiddel zou veroorzaakt kunnen worden, doordat het met enig slijm van de slijmepidermis door de grond wordt afgeschoven (epigaeïsche kieming) of doordat het ontleedt of door het zakwater wordt afgespoeld.

Zaadontsmetting en invloed van de uitwendige omstandigheden

Nu keren wij weer terug tot het vergelijkend onderzoek naar het effect van zaadontsmetting tegen de grauwe schimmel (Botrytis) met het antibioticum P, waarbij bleek, dat de mate waarin de bakjes begoten worden van grote invloed is op het resultaat.

In tabel 1 is het effect van enkele zaadontsmettingsmiddelen tegen de grauwe schimmel weergegeven. Bij deze proef is vanaf

TABEL 1

Effect van enkele zaadontsmettingsmiddelen tegen de grauwe schimmel bij vlas
Effect of some seed disinfectants in controlling grey mould of flax

Zaad-behandeling *Seed treatment*	Dosering *Dosage g/kg*	Percentage opgekomen planten *Percentage of plants emerged*	Percentage zieke (Botrytis) planten op *Percentage of diseased plants on*						
			4/6	6/6	10/6	12/6	25/6	29/6	16/7
Onbehandeld *Untreated*	—	81	eerste zieke planten	15.8	—	25.0	34.0	35.5	35.5
Aagrano	3	94	0	1.0	—	1.8	2.8	3.3	3.5
Aatiram	4	97	0	0	0.3	0.8	1.0	1.5	2,0
Antibiot. P (poeder)	4	92	0	0	0	0	0	0	0

Zaad met ± 23% Botr. — kiemkracht 96 — kiemenergie 95 — dorsbeschadiging 7% licht.

Datum ontsmetting 26/5 — zaaidatum 26/5 — begin opkomst 1/6 — 4 × 100 zaden per behandeling in vierkantsverband van 1.5 cm.

Percentage of infected seeds ± 23% Botr. — germinating cap. 96 — germinating energy 95 — threshing damage 7% slight.

Date of seed disinfection 26/5 — date of sowing 26/5 — first appearance of seedlings 1/6 — 4 × 100 seeds per treatment in 0.6 inch square.

het zaaien regelmatig gegoten om de grond constant vochtig te houden. De eerste zieke planten verschijnen bij het onbehandelde object het eerst, daarna bij het object Aagrano (kwikbevattend middel) en vervolgens bij Aatiram (T.M.T.D. — bevattend middel). De percentages zieke planten nemen in dezelfde volgorde af, terwijl het antibioticum P een volledige bestrijding geeft. Deze proef is driemaal herhaald met hetzelfde resultaat.

Uit de uitkomsten van een proef met verschillende doseringen van het antibioticum P bleek, dat 1, 2 en 4 g/kg zaad eenzelfde resultaat gaven, n. l. geen of slechts één zieke plant per 400 zaden. (0,3%). Door omstandigheden is tijdens deze proef weinig gegoten, zodat de grond wel eens niet vochtig genoeg was. Dit moet de reden zijn, dat de drie genoemde doseringen hetzelfde resultaat hebben gegeven.

Uit verscheidene andere proeven is n.l. gebleken, dat dit bij regelmatig gieten beslist niet het geval is.

Nadat deze proeven dikwijls herhaald waren, bleek de dosering 4 g/kg soms na verloop van enige tijd per 400 zaden nog wel eens één zieke plant te geven, de doseringen van 2 g/kg of minder

daarentegen altijd meer. Dit wordt nader geïllustreerd in tabel 2, waarin de resultaten zijn vermeld van een proef met verschillende doseringen van het antibioticum P.

TABEL 2

Effect van verschillende doseringen van het antibioticum P tegen de grauwe schimmel bij vlas
Effect of various dosages of the antibiotic P in controlling grey mould of flax

	Zaad-behandeling *Seed treatment*	Dosering *Dosage g/kg*	Percentage opgekomen planten *Percentage of plants emerged*	Percentage zieke (Botrytis) planten op *Percentage of diseased plants on*							
				14/2	18/2	19/2	21/2	25/2	4/3	11/3	2
1	Onbehandeld *Untreated*	—	78	eerste zieke planten	—	17.0	18.8	26.5	31.8	33.3	3
2	Talk	0.9	84	idem	—	18.0	19.8	21.5	27.5	27.8	2
3	Antibiot. P (poeder)	0.1	94	idem	—	9.3	10.5	14.3	16.0	17.5	1
4	Antibiot. P (poeder)	0.3	91	idem	—	7.0	7.5	12.3	15.8	18.3	1
5	Antibiot. P (poeder)	0.5	95	0	eerste zieke planten	1.0	1.3	4.8	8.8	10.0	1
6	Antibiot. P (poeder)	0.8	92	0	idem	0.5	0.8	1.5	3.3	4.8	
7	Antibiot. P (poeder)	1.0	92	0	0	0.3	0.5	1.0	3.0	4.3	
8	Antibiot. P (poeder)	2.0	96	0	0	0	0.3	0.5	2.8	4.5	
9	Antibiot. P (in methanol)	0.4—0.6	93	0	eerste zieke planten	1.3	1.8	5.8	6.8	9.5	
10	Aagrano	3.0	96	0	idem	0.5	0.5	2.3	3.5	4.5	

Zaad met ± 28% Botr. — kiemkracht 90 — kiemenergie 76 — dorsbeschadiging 17% licht.
Datum ontsmetting 4/2 — zaaidatum 5/2 — begin opkomst 12/2 — 4 × 100 zaden per behandeling in vierkantsverband van 1.5 cm.

Percentage of infected seeds ± 28% Botr. — germinating cap. 90 — germinating energy 76 — threshing damage 17% slight.
Date of seed disinfection 4/2 — date of sowing 5/2 — first appearance of seedlings 12/2 — 4 × 100 seeds per treatment in 0.6 inch square.

Naast het gewone contrôle-object komt tevens een contrôle „talk" voor, omdat de lage doseringen zonder bijmenging van talk niet goed meer op het zaad zijn te brengen. Als vergelijkingsobject is „Aagrano" ingelast, terwijl eveneens een object „P in methanol" voorkomt.

Het valt op, dat hoe lager de dosering is, des te eerder de eerste zieke planten verschijnen en des te hoger uiteindelijk het percentage

zieke planten is. Dit moet voornamelijk toegeschreven worden aan het feit, dat een lagere dosering onder de gegeven omstandigheden sneller is verdwenen dan een hogere dosering. Hierdoor kan in het eerstgenoemde geval het mycelium van meer geïnfecteerde zaden uitgroeien dan in het geval van een hogere dosering, èn tevens kan dit eerder plaats vinden.

Dat dit een algemeen geldend verschijnsel is, kon o. a. met de volgende proef worden bewezen, waaruit tevens bleek, dat de neerslag bepaalt hoe lang het middel op de zaadhuid aanwezig blijft.

Door de in de grond achtergebleven zaadhuidjes op verschillende tijdstippen na het zaaien op Aspergillus-agar-platen uit te leggen, kon worden nagegaan hoe lang de betreffende dosering van een ontsmettingsmiddel aantoonbaar blijft.

Aangezien de lege zaadhuidjes moeilijk of niet meer te vinden zijn als de kiemplanten eenmaal goed boven de grond staan, moest de uitvoering van deze proef op de volgende wijze plaats vinden.

Zes hoeveelheden van hetzelfde lijnzaadmonster werden respectievelijk ontsmet met het kwikbevattende middel Aagrano in de dosering van 3 g/kg zaad, het T.M.T.D.-bevattende middel Aatiram in de doseringen van 3 en 5 g/kg en het antibioticum P in die van 1, 2 en 4 g/kg zaad. Een zevende hoeveelheid werd niet ontsmet (contrôle).

Serie I (niet begoten)

Van elk dezer hoeveelheden lijnzaad werden vier potten met elk 20 zaden ingezaaid. Deze vier potten van elk object werden resp. bij een temperatuur van 14°, 8.5°, 6° en 5° C geplaatst. Op deze wijze bereikt men dat de kiemplanten juist door het grondoppervlak heenbreken, waarbij het zaadhuidje in de grond is achtergebleven, op resp. 6, 12, 21, en 27 dagen na het zaaien.

Gezaaid werd in een gestoomd vochtig mengsel van klei en compost, terwijl de potten niet begoten werden. Zij werden door zakjes van poly-ethyleen omhuld om de vochtigheid van de grond zo constant mogelijk te houden.

Serie II (vanaf het zaaien begoten)

Een tweede dergelijke serie werd regelmatig vanaf het zaaien begoten.

Serie III (vanaf de zesde dag na het zaaien begoten)

Een derde serie werd gedurende zes dagen na het zaaien niet begoten en eveneens door poly-ethyleen omhuld. Daarna werd regelmatig gegoten. Er stonden van deze serie geen potten bij 5° C.

De gemiddelde vochtigheid van de grond van de zeven bij elkaar behorende objecten van elke serie is bepaald op het ogenblik, dat de zaadhuidjes opgegraven en uitgelegd werden. De verkregen waarden zijn in tabel 3 weergegeven.

TABEL 3

Vochtgehalten van de grond in percentages van de droge grond bij 105° C
Moisture content of the soil in percentages of the dry soil at 105° C

Serie *Series*	Aantal dagen na het zaaien *Number of days after sowing*			
	6	12	21	27
I	35	34	36	35
II	43	41	43	42
III	37	40	43	—

Van serie III was de grond van de objecten Antibioticum P in de doseringen 1 en 4 gram per kilogram zaad op 21 dagen na het zaaien te nat.

Direct na de ontsmetting werden vóór het zaaien 10 zaden van elk object op twee Aspergillus-agar-platen uitgelegd.

Zes dagen na het zaaien konden 10 in de grond achtergebleven zaadhuidjes van de drie series, waarvan de objecten bij 14° C hadden gestaan opgegraven en uitgelegd worden.

Twaalf dagen na het zaaien kon hetzelfde gebeuren met de drie series, waarvan de objecten bij 8.5° C hadden gestaan.

Hetzelfde herhaalde zich 21 en 27 dagen na het zaaien.

De gemiddelde breedte van de remmingszônes zijn weergegeven in tabel 4.

Over de remmingszônes van de uitgelegde zaden kan het volgende worden gezegd. Als gevolg van de relatief hoge doseringen voor een dergelijke toets ten opzichte van de diffusiesnelheid van de middelen in de agar zijn er geen verschillen in grootte van de remmingszônes bij de verschillende doseringen van één en hetzelfde middel waar te nemen.

Uit de resultaten van serie I (niet begoten) blijkt, dat er ontsmettingsmiddel verdwijnt naarmate de tijd verstrijkt, en wel gedurende de eerste dagen na het zaaien het meest. Aagrano is 6 dagen na het zaaien praktisch niet meer aantoonbaar. Aatiram

blijft in de dosering van 3 g/kg tot 28 dagen na het zaaien aantoonbaar, hoewel er gaandeweg op enkele zaadhuidjes geen TMTD meer aanwezig blijkt te zijn.

TABEL 4

Aspergillus toets. Gemiddelde breedte van de remmingszones in mm na het uitleggen van 10 zaden (voor het zaaien) of 10 zaadhuidjes (na het zaaien)
Aspergillus test. Avarage size of the inhibition zones in mm after plating 10 seeds (before sowing) or 10 seedcoats (after sowing)

	Zaad-behandeling *Seed treatment*	Dosering *Dosage g/kg*	Aantal dagen na het zaiien *Number of days after sowing*				
			voor het zaaien *before sowing*	6	12	21	27
Serie I (niet begoten) *Series I (not watered)*	Contrôle	—	0	0	0	0	0
	Aagrano	3	9.5	±	0	±	0
	Aatiram	3	12.6	4.2	2.5	3.0	1.6
	Aatiram	5	12.6	8.8	3.2	5.7	5.9
	Antibiot. P	1	8.5	0.3	0.2	±	0
	Antibiot. P	2	8.5	2.9	1.7	1.8	0.7
	Antibiot. P	4	9.5	4.3	3.9	2.6	2
Serie II (regelmatig begoten *Series II (watered frequently)*	Contrôle	—	0	0	0	0	0
	Aagrano	3	9.5	0	0	0	0
	Aatiram	3	12.6	2.1	±	±	0
	Aatiram	5	12.6	6.1	1.1	±	3.4
	Antibiot. P	1	8.5	±	0	0	0
	Antibiot. P	2	8.5	1.1	1.2	0.1	0.3
	Antibiot. P	4	9.5	2.8	2.1	1.5	1.7
Serie III (regelmatig begoten vanaf 6e dag na het zaaien) *Series III (watered frequently from the 6th day after sowing)*	Contrôle	—	0	0	0	0	
	Aagrano	3	9.5	0	0	0	
	Aatiram	3	12.6	5.6	±	±	
	Aatiram	5	12.6	8.8	6.9	±	
	Antibiot. P	1	8.5	0.2	0	0	
	Antibiot. P	2	8.5	2.5	1.0	0.2	
	Antibiot. P	4	9.5	3.8	2.7	0.5	

± betekent om een enkele zaadhuid nog een spoor van remming.
Onderstreping betekent om één of meer zaadhuidjes geen remmingszóne.

± means still a trace of inhibition around a single seedcoat.
Underlining means no inhibition zone around one or more seedcoats.

Hetzelfde geldt, hoewel in mindere mate, voor Aatiram in de dosering van 5 g/kg. Er is echter een duidelijk verschil tussen de twee laatstgenoemde behandelingen, zodat het voor

minder gezonde partijen wenselijk blijft een zo hoog mogelijke dosering te nemen.

Antibioticum P is in de dosering van 1 g/kg onder de gegeven omstandigheden ten enen male onvoldoende, terwijl het in de dosering van 2 g/kg zeker tot 28 dagen na het zaaien aantoonbaar blijft. Om enkele zaadhuidjes is echter vanaf 12 dagen na het zaaien geen remmingszône meer te zien. Op dit tijdstip was het met slechts één van de tien zaadhuidjes het geval; op 27 dagen na het zaaien met drie van de tien.

4 gram antibioticum P per kilogram zaad blijft tot minstens 28 dagen na het zaaien aantoonbaar; geeft dus het allerbeste resultaat.

In serie II (regelmatig begoten) verdwijnt het ontsmettingsmiddel bij alle objecten veel sneller dan bij serie I. (niet begoten) Er blijft een duidelijk verschil tussen lage en hoge dosering van één en hetzelfde middel.

Aatiram springt in de dosering van 5 g/kg op 27 dagen na het zaaien eruit. Dit zal toegeschreven moeten worden aan de toevallige omstandigheid, dat hier bij het zaaien vnl. zaden zijn genomen, die door de aard van hun oppervlak meer ontsmettingsmiddel hebben vastgehouden.

Antibioticum P geeft in de dosering van 4 g/kg in deze serie weer het beste resultaat.

In serie III geven de objecten op 6 dagen na het zaaien hetzelfde resultaat als de objecten op hetzelfde tijdstip van serie I. Aangezien de potten van beide series op dit tijdstip niet begoten zijn, is dit in goede overeenstemming met elkaar.

Op 12 en 21 dagen na het zaaien is er over het algemeen weinig verschil met de overeenkomstige objecten van serie II. Aatiram geeft in de dosering van 5 g/kg in serie III op 12 dagen na het zaaien gemiddeld een bredere remmingszône dan in serie I. De oorzaak hiervan moet weer gezocht worden in de hoeveelheid ontsmettingsmiddel, die de verschillende zaden door de aard van hun oppervlak vasthouden. Het antibioticum P geeft in de dosering van 4 g/kg op 21 dagen na het zaaien gemiddeld een kleinere remmingszône dan hetzelfde object in serie II. Dit moet toegeschreven worden aan de te hoge vochtigheid van de grond (zie p. 540).

Uit deze resultaten blijkt dus duidelijk, dat de neerslag bepaald hoe lang het ontsmettingsmiddel aanwezig blijft.

Of de neerslag onmiddellijk of korte tijd na het zaaien valt, schijnt van geen invloed te zijn. Zeer waarschijnlijk is dit met betrekking tot de schimmel wel van belang.

Het ontsmettingsmiddel wordt dus, waarschijnlijk met enig slijm van de slijmepidermis, door het zakwater afgespoeld. De

bodemvochtigheid zelve zal daarnaast ook nog van enige, zij het veel geringere betekenis zijn.

Het bovenstaande zal zeer waarschijnlijk ook bij de ontsmetting van andere zaden gelden. Voor lijnzaad wellicht in zeer uitgesproken mate vanwege de slijmepidermis. Daarnaast zal de bovengrondse ontkieming het verdwijnen van het ontsmettingsmiddel nog mede kunnen bevorderen, doordat de zaadhuid bij de ontkieming meer of minder door de grond wordt getrokken.

Gelijktijdig met de Aspergillus-agar-toets werd hetzelfde zaad in grond uitgezaaid om het effect van de ontsmetting op het optreden van de grauwe schimmel te onderzoeken. De resultaten hiervan zijn in tabel 5 weergegeven. Hieruit blijkt tezamen met

TABEL 5

Effect van enkele zaadontsmettingsmiddelen tegen de grauwe schimmel bij vlas
Effect of some seed desinfectants in controlling grey mould of flax

Zaad-handeling *Seed reatment*	Dosering *Dosage* g/kg	Percentage opgekomen planten *Percentage of plants emerged*	Percentage zieke (Botrytis) planten op *Percentage of diseased plants on*							
			10/3	11/3	14/3	18/3	22/3	30/3	5/4	10/4
ıbehandeld *Jntreated*	—	83	eerste zieke planten	16.4	25.2	30.2	31.9	33.2	33.4	33.6
agrano	3	96	0	0.3	0.8	1.8	2.8	3.8	3.8	3.8
atiram	3	94	0	0	0	0.5	1.0	2.0	2.3	2.3
atiram	5	93	0	0	0.3	0.3	0.3	1.0	1.0	1.0
ntibiot. P poeder)	1	96	0	0	0.5	0.5	0.8	2.0	2.0	2.0
ntibiot. P poeder)	2	94	0	0	0.5	0.5	0.5	1.8	1.8	1.8
ntibiot. P poeder)	4	96	0	0	0	0	0	0.3	0.3	0.3

Zaad met ± 25% Botr. — kiemkracht 95 — kiemenergie 87 — dorschbeschadiging 16% licht.

Datum ontsmetting 27/2 — zaaidatum 28/2 — begin opkomst 8/3 — 4 × 100 zaden per behandeling in vierkantsverband van 1.5 cm.

Percentage of infected seeds ± 25% Botr. — germinating cap. 95 — germinating energy 87 — treshing damage 16% slight.

Date of seed disinfection 27/2 — date of sowing 28/2 — first appearance of seedlings 8/3 — 4 × 100 seeds per treatment in 0.6 inch square.

de resultaten van de Aspergillus-toets inderdaad, dat de eerste zieke planten vroeger verschijnen naarmate het ontsmettingsmiddel sneller verdwijnt en dat dan het percentage zieke planten tevens groter is. Hoewel Aagrano snel is verdwenen geeft dit middel

een naar verhouding goed resultaat. Dit moet toegeschreven worden aan zijn sterk fungicide werking. Deze eigenschap is een tweede factor, die naast de tijdsduur, dat het ontsmettingsmiddel op en mogelijk oppervlakkig in de zaadhuid aanwezig blijft, het effect van een zaadontsmettingsmiddel bepaald.

Het feit, dat de ,,dode harrel'' (Ascochyta) door zaadontsmetting minder effectief te bestrijden is dan de grauwe schimmel zou met bovengenoemde resultaten eveneens verklaard kunnen worden. In Nederland wordt het zich dieper in de zaadhuid bevinden van het mycelium veelal als oorzaak genoemd. Ofschoon hierover weinig literatuur is, is dit volgens Schilling niet het geval.

De grauwe schimmel is echter een ziekte, die in een zeer snel tempo het jonge gewas aantast; bij de ,,dode harrel'' daarentegen vindt het ontstaan van de eerste zieke planten langzamer plaats dan bij de grauwe schimmel. Derhalve zou het ontsmettingsmiddel bij met Ascochyta geïnfecteerde zaden nog langer in een voldoende hoge dosering op de zaadhuid aanwezig moeten blijven om een gezonde plant te geven, dan bij zaden, die met Botrytis zijn geïnfecteerd.

SUMMARY

The Influence of the Environment on the Effect of Linseed Disinfection

When the effect of some seed disinfectants in controlling grey mould (Botrytis) of flax is compared with that of the antibiotic P it appears that the frequency with which the flats are watered and the amount of water are of essential importance for the results.

The foregoing, will be illustrated by the results of some experiments. For clearness' sake the origin of the diseased seedlings, which are infected by the mycelium carried by the seed, and the course of grey mould as juvenile disease are described summarily. I found the prevailing opinion about it to be incorrect*.

It appeared from an experiment with some dosages of the antibiotic P, that 1, 2 and 4 g/kg gave the same results, i.e. none or only one diseased plant per 400 seeds. This has been brought about by watering the flats very moderately, because if watered frequently the results are different. (table 1 and 2).

The rate with which the disinfectant disappears was examined with the Aspergillus-agar-test. The results are given in table 4. Table 3 shows the moisture content of the soil.

Simultaneously with the Aspergillus-agar-test the same seed was sown in soil. The results are given in tabel 5.

From table 4 and 5 it is apparent that the first diseased plants appear earlier as the disinfectant disappears more rapidly and in this case the percentage of diseased plants is higher at the same time.

From table 4 it is obvious that rain determines how long the disinfectant will remain on the seedcoat.

The disinfectant is washed down with gravitational water probably together with some slime of the mucilaginous epidermal layer. Apart from this the soil moisture itself will have little influence on the disappearance of the disinfectants.

Compared with grey mould, foot rot („dead stalks" — Ascochyta) is controlled less effectively by means of seed disinfection, because the origin of the first diseased plants from infested seeds takes place more slowly in the case of foot rot than with grey mould.

Consequently, in the case of Ascochyta-infestation of the seeds, the seed disinfectant must be present on the seedcoat in a sufficiently high dosage during a longer time than in the case of an infestation with Botrytis.

(*) Will be published in greater detail in *Technical Bulletin of the International Confederation of Flax and Hemp* 1957, n° 2.

EXOBASIDIUM JAPONICUM OP AZALEA

door

W. Graafland

Phytopathologisch Laboratorium „Willie Commelin Scholten"
Baarn

Inleiding

De door *Exobasidium japonicum* Shir. (syn. *E. azaleae* Peck) veroorzaakte aantasting in de Azalea-cultures is een ziekte, die nog vrij veelvuldig voorkomt. Vooral in de Gentse cultures is deze parasiet vaak een plaag voor een aantal variëteiten, die sterk vatbaar zijn b.v. Hexe. Er zijn ook variëteiten, die een geringe vatbaarheid voor deze parasiet vertonen. De Japanse Azalea's, die vrij veel in Boskoop worden gekweekt, zijn veel minder vatbaar, maar toch kunnen enkele variëteiten zoals Esmeralda en Moederkensdag nog een aanzienlijke aantasting vertonen.

Het ziektebeeld is opvallend : alle bovengrondse plantendelen kunnen hypertrophiëren, vooral de bladeren, maar ook de stengels en bloemdelen.

Juist in een goed verzorgde Azalea-cultuur krijgt *Exobasidium* de kans; als de kas goed wordt doorlucht en als de planten flink worden begoten treden sterke luchtstromingen op, waardoor de ziekte flink wordt verspreid. Wordt de temperatuur of de relatieve vochtigheid in de kas te hoog, dan bezetten al gauw saprophyten de aangetaste, waterrijke plantendelen, die daardoor necrotiseren en afsterven. Hierdoor kan geen sporulatie van *Exobasidium* op deze delen meer optreden. Dit kan echter geen vorm van bestrijding zijn, daar ook de Azalea's zelf onder deze omstandigheden slecht groeien.

De bestrijding, die voor deze schimmel wordt aangeraden is nog vrij primitief. De Nederlandse Tuinbouwgids van de laatste jaren geeft hiervoor aan : het afplukken van de aangetaste delen, voordat het „poeder", de sporen, vrijkomt, waarna bespuiting met 500 g koperoxychloride of 300 g kopercarbonaat per 100 l water wordt geadviseerd. Deze bestrijding is niet afdoende; het is moeilijk de nog niet rijpe hypertrophieën af te plukken daar de zieke delen in een dicht opeenstaand bestand van Azalea pas opvallen, als ze wit worden. Dan hebben zich echter de basidiosporen al gevormd en de verspreiding van de schimmel is dan reeds mogelijk. Gaat

men in dit stadium de aangetaste delen afplukken, dan wordt het kwaad erger, want juist door deze behandeling wordt de verspreiding van de schimmel in de hand gewerkt.

Onderzoek

Voor een meer rationele bestrijding werd het van belang geacht een onderzoek in te stellen naar de verhouding van de parasiet *Exobasidium japonicum* tot zijn waardplant *Azalea*. Daarom werd gezocht naar de verspreiding van deze schimmel en naar de wijze van aantasting van de waardplant. Hierover is in de literatuur weinig te vinden.

Reincultures. — Dit onderzoek werd veel eenvoudiger toen het mogelijk bleek de parasiet in reincultuur te kweken en toen gevonden werd, dat deze cultures gebruikt konden worden voor de inoculatie van de waardplant. Brefeld (1889) had al voor *Exobasidium vaccinii* (Fuck.) Wor. gevonden, dat deze schimmel in vloeistofcultures was te kweken, waarbij conidiën werden gevormd. Heel summier zegt deze auteur, dat deze cultures gebruikt konden worden voor inoculaties van de waardplant *Vaccinium vitis idaea*. Latere onderzoekers blijken deze opmerking van Brefeld over het hoofd te hebben gezien, want in vele publicaties wordt *Exobasidium* toch weer een geslacht van obligate parasieten genoemd; zo doet bv. Loos (1951) dit voor *E. vexans* Massee, de veroorzaker van de „blister blight" van thee. Graafland (1953) kon 4 soorten *Exobasidium*, waaronder *E. japonicum* Shir. van Azalea, in reincultuur kweken. Hij slaagde erin door inoculatie met een reincultuur van *E. vaccinii* een infectie van de waardplant *Vaccinium vitis idaea* te verkrijgen.

Wijze van inoculatie. — De verkregen gistachtige reincultures op agar van *E. japonicum* konden verder worden gekweekt als schudcultures, dat zijn vloeistofcultures, die door regelmatig schudden een homogene groei door de vloeistof vertonen. Zowel op agar als in vloeistof vormt deze schimmel uitsluitend gistachtige sporen, waarvoor naar analogie met *Exoascus* de naam blastosporen (Mix; 1949) wordt voorgesteld in plaats van de minder juiste naam conidiën. In de schudcultures werd een suspensie van blastosporen gevormd, die goed te gebruiken was voor de inoculaties. Deze suspensies werden met een penseel op de te infecteren plantendelen gebracht. Daarna werden de geïnoculeerde planten 24-30 uur vochtig gehouden in een gesloten kastje, waarvan de wanden bekleed waren met vochtig filtreerpapier. Drie tot vier weken na de inoculatie konden de eerste verschijnselen van aantasting worden waargenomen : kleine verdikkingen in de jonge plantendelen.

Zowel uitgaande van ziek materiaal afkomstig van Gentse als van Boskoopse Azalea's konden reincultures van *Exobasidium* worden verkregen, die zowel macroscopisch als microscopisch in niets van elkaar verschilden. Door kruisinoculaties op Hexe (Gent) en Esmeralda (Boskoop) kon worden vastgesteld, dat de aantasting in deze beide Azalea variëteiten door één parasiet werd veroorzaakt.

Voorwaarden voor de inoculatie

Uit gesprekken met kwekers alsook uit een rapport van het Rijksproefstation voor Plantenziekten Gent, samengesteld door de heer W. Welvaert (1952), kwam duidelijk naar voren, dat de sterkste aantasting van de planten werd waargenomen na de bloei, als zich jonge bladknoppen gingen ontwikkelen alsook na het snoeien of na het afnemen van stekmateriaal, waardoor okselknoppen gingen uitlopen.

Daarom werd bij het zoeken naar een goede inoculatiemethode als werkhypothese gesteld, dat alleen zeer jonge bladeren konden worden aangetast. Dit bleek juist te zijn, want werden ten tijde van de inoculatie de reeds als blaadjes zichtbare delen gemerkt, dan werden deze niet aangetast, maar wel de delen, die zich later ontwikkelden. Daarom werden voor de routine-inoculaties de toppen uit de planten genomen, waarna alle okselknoppen, die tot uitlopen konden komen (dat zijn meestal de 3-5 okselknoppen onder de top), werden aangestreken met de cultuursuspensie.

Het is ook mogelijk de top te inoculeren, maar daar deze natuurlijkerwijze veel meer beschermd ligt door jonge blaadjes dan de okselknoppen, slaagt de inoculatie hiervan vaak minder goed.

Uit deze proeven blijkt, dat juist het jonge plantenweefsel zeer gevoelig is voor deze parasiet. Daardoor wordt ook de praktijkwaarneming bevestigd, dat een heviger optreden van deze ziekte waargenomen wordt na de bloei of na snoeien. Het zal dus zaak zijn ten tijde van de ontwikkeling van vele bladknoppen deze te beschermen tegen infectie.

Overeenkomst met Exoascus

Bij de bestudering van deze ziekte in Azalea kwam weer naar voren de grote mate van overeenkomst, die er bestaat tussen de geslachten *Exobasidium* en *Exoascus* (*Taphrina*) in hun manier van aantasten en hun ziektebeeld.

Wieben (1927) vond voor *Exoascus epiphylla* en *E. Klebahni* een copulatie van blastosporen. Bij andere *Exoascus-soorten* werd dit nooit gevonden (Mix 1949).

Naar dit verschijnsel werd ook bij *Exobasidium japonicum* gezocht, maar noch bij kiemende blastosporen noch bij basidiosporen werd iets van copulatie waargenomen. De gevormde hyphen

en blastosporen groeiden in alle onderzochte gevallen over en langs elkaar heen.

F i t z p a t r i c k (1934) kon bij *Taphrina deformans* bewijzen, dat infectie van de waardplant mogelijk was zonder fusie van twee sporen. Hij verkreeg reincultures van afzonderlijk geïsoleerde ascosporen; zo'n monoascosporecultuur kon voor een inoculatie worden gebruikt. Copulatie van 2 ascosporen of blastosporen was dus in dit geval niet noodzakelijk.

Het gelukte ook bij *Exobasidium japonicum* éénsporecultures te verkrijgen, zowel uitgaande van blastosporen als van basidiosporen. Deze cultures konden alle worden gebruikt voor inoculaties van de waardplant. Ook de cultures verkregen van de 4 of 5 basidiosporen van één basidium gaven, elk afzonderlijk, positief resultaat bij inoculatie. De parasiet gaf daarbij de normale levenscyclus te zien. Er kan dus bij *Exobasidium japonicum*, evenals bij *Exoascus deformans* geen onderscheid gemaakt worden tussen sporen, die op één basidium, respectievelijk in één ascus zijn gevormd. De schimmel is dus homothallisch.

SAMENVATTING

De oortjesziekte (ezelsoren) van Azalea wordt zowel in de Gentse cultures als in de Boskoopse veroorzaakt door *Exobasidium japonicum* Shir. (syn. *E. azaleae* Peck).

Deze schimmel kan in reincultuur worden gebracht, waarbij dan uitsluitend blastosporen worden gevormd (=sporidiën= gistachtige sporen). Met deze cultures kunnen infecties teweeggebracht worden, die een ziektebeeld geven, dat zich in niets onderscheidt van een natuurlijke aantasting. Voor een geslaagde inoculatie is het noodzakelijk, dat de sporen van de schimmel terecht komen bij zeer jong weefsel, dat gaat uitgroeien. Dit is b.v. het geval bij okselknoppen, die door één of andere oorzaak gaan uitlopen. Dit verklaart ook het versterkte optreden van deze ziekte na het snoeien van het gewas of na het afnemen van stekmateriaal. Uitgegroeide bladen zijn niet meer gevoelig. Een betere bestrijding van deze ziekte zal mogelijk zijn door de plant juist dan te beschermen als rustende knoppen tot ontwikkeling komen.

De één-sporecultures verkregen door scheiding van de 4 of 5 basidiosporen van één basidium waren alle tot infectie in staat. Elke éénsporecultuur leidde na inoculatie tot een aantasting, waarbij de normale levenscyclus doorlopen werd.

Er kan dus bij deze *Exobosidium* geen onderscheid gemaakt worden tussen de sporen van één basidium wat betreft hun infectieus vermogen. De schimmel is dus homothallisch.

SUMMARY

Exobasidium japonicum on Azalea

The hypertrophic parts (galls) of Azalea leaves, twigs and sometimes of flowers are caused by *Exobasidium japonicum* Shir. (syn. *E. azaleae* Peck.). This disease occurs as well on the Azalea varieties cultivated at Gent (Belgium) as on those cultivated at Boskoop (Holland). Pure cultures of this fungus consist of blastospores. The disease caused by inoculation with these cultures shows exactly the same symptoms as observed by a natural attack. Only the very young parts of the plant especially the axillary buds at the moment of sprouting, are sensitive; therefore plants have to be protected just after taking cuttings or after pruning. Monosporecultures were obtained by separation of the 4 or 5 basidiospores of one basidium. Each of these cultures proved to be capable of infection and each of them could give rise to the complete life cycle of the fungus on the plant.

LITERATUUR

BREFELD, O. — 1889. Die Gattung Exobasidium. *Unters. aus dem Gesamtgeb. der Mykologie* 3, Heft 8, 12-18.

FITZPATRICK, R. E. — 1934. The life history and parasitism of Taphrina deformans. *Sc. Agric.* 14, 305-326.

GRAAFLAND, W. — 1953. Four species of Exobasidium in pure culture. *Acta Bot. Neerl.* 1, 516-522.

LOOS, C. A. — 1951. The causitive fungus. *Tea Quart.* 22, 63-68.

MIX, A. J. — 1949. A monograph of the genus Taphrina. *Science Bull. Un. Kansas* 33, 1-167.

WELVAERT, W. — 1952. De oortjesziekte. *Rijksst. voor Plantenz.* Gent, Leaflet 48.

WIEBEN, M. — 1927. Die Infektion, die Myzelüberwinterung und die Kopulation bei Exoasceen. *Fortsch. Geb. Pflanz. krankh. und Immunitat Pflz. reich* 3, 139-176.

Ing. W. Welvaert, Gent

V : Nu de infectiemogelijkheid gekend is zijn er reeds vooruitzichten voor de bestrijding?

A : Uit het onderzoek is wel gebleken, wanneer de infectiekans het grootste is en daarop zal de bestrijding gericht moeten worden. Welke middelen hiervoor het beste voldoen, zal nader onderzocht moeten worden.

LA THERMOTHERAPIE DES VIROSES VEGETALES

par

G. Roland

Station de Phytopathologie de l'Etat, Gembloux

Introduction

Du fait de la localisation intracellulaire des particules-virus dans les plantes, il est extrêmement difficile de guérir des végétaux virosés d'autant plus que l'on n'a pas observé chez ces derniers de cas d'immunité acquise semblable à celle qui se développe chez les animaux. En général, la lutte contre les virus se borne à des mesures préventives tendant à protéger les plantes, ou à renforcer leur résistance, contre les contaminations (33). Nous avons vu précédemment (32) que les nombreux essais de chimiothérapie effectués n'avaient guère donné que des résultats d'ordre expérimental. Jusqu'à présent, seule la thermothérapie a permis de guérir, à l'échelle de la pratique, des plantes ou des organes de reproduction végétative infectés.* Nous nous proposons de signaler ici les techniques de thermothérapie qui ont amené la guérison de certaines viroses végétales et nous mentionnerons, pour chacune de ces dernières, les conditions optimums principales à réaliser. Ensuite, nous essaierons d'expliquer le mécanisme d'action des différents traitements.

Techniques utilisées

Les traitements par la chaleur se font soit par trempage dans de l'eau plus ou moins chaude soit par action d'air chaud humide; ils sont appliqués tantôt sur des plantes entières, tantôt sur des organes de multiplication (boutures, bois de greffe, rhizomes, tubercules).

(*) Signalons que par la culture aseptique de méristèmes, selon une technique très délicate de laboratoire utilisée pour la première fois par G. Morel et C. Martin (25), il a été possible de régénérer certaines variétés entièrement virosées. Par suite des difficultés qu'elle présente, cette technique n'est à la portée que de personnes très spécialisées.

Le **trempage dans l'eau chaude** est de loin le traitement le plus drastique. Il se pratique à des températures voisines, le plus souvent, de 50° C. Suivant la température de l'eau, la résistance spécifique de la plante, l'épaisseur et la constitution des parties traitées, la durée du traitement varie de quelques minutes (parfois quelques secondes) à un certain nombre d'heures (parfois de jours). Cette technique s'applique, en général, à des organes de multiplication, plus rarement à des plantes, au repos. Dans ce dernier cas, les plantes sont dépotées et leurs racines débarrassées de la terre par un courant d'eau, avant d'être immergées.

Il est recommandé de désinfecter le matériel utilisé, surtout lorsque l'on opère sur de grandes quantités de végétaux (6).

Le **traitement à l'air chaud** peut être employé selon deux modalités différentes soit que l'on s'attache à guérir intégralement les végétaux ou les organes traités, soit que l'on vise à faire produire des boutures saines par des plantes ou des organes infectés. Dans le traitement à l'air chaud, la température utilisée n'atteint 50° que dans quelques cas; en général, elle se cantonne entre 35° et 45° C et elle est maintenue, le plus souvent, pendant un certain nombre de jours. On évite la dessiccation des tissus en maintenant l'atmosphère humide ou en effeuillant et en arrosant les plantes avec de l'eau à la température de l'air. Dans certains cas, il convient d'appliquer sur ces dernières un fongicide avant, et parfois après, le traitement, de façon à éviter autant que possible les attaques de champignons (27). Enfin, il est recommandable d'exposer les plantes à la lumière du jour pendant l'opération, plutôt que de les maintenir à l'obscurité (10).

Après le trempage dans l'eau chaude ou le simple traitement par l'air chaud, les plantes ou les organes utilisés sont généralement mis en végétation, éventuellement après greffage sur des sujets sains s'il s'agit de bois de greffe. Par contre, si on a eu recours à l'action de l'air chaud dans le but de faire produire des pousses saines par les végétaux traités, on prélève ces dernières immédiatement après le traitement et on en fait des boutures. Celles-ci sont cultivées d'abord sur sable (15), mais parfois aussi sur milieu gélosé (29 et 36), puis ultérieurement sur terreau.

Résultats obtenus

Dans les Tableaux I, II et III, nous présentons les cas de guérison de viroses obtenus par thermothérapie en indiquant pour chacun d'eux les principales modalités d'application de la chaleur. Signalons ici que les plantes ou les organes traités sont rarement tous guéris et qu'une partie d'entre eux meurt, tandis qu'une autre partie reste infectée.

TABLEAU I

Guérison de viroses par trempage dans l'eau chaude

Plante	Organe traité	Virose	Température	Durée du trempage	Références
Fraisier	plante	non identifiée	43° à 48°	½ à 7 h	24
Canne à sucre	bouture	rabougrissement	53°	1 h	12
,,	,,	,,	50°	2 h	12, 23, 26
,,	,,	bigarrure chlorotique	52°	20′	4, 39, 41
,,	,,	„sereh disease"	52 à 55°	30′	40
,,	,,	,, ,,	52°	30′	11
Pêcher	bois de greffe	jaunisse	34° à 35°	4 à 5 j	18
,,	,,	,,	56°	15″	18
,,	,,	„little peach"	40°	115′	18
,,	,,	,, ,,	50°	3′	18
,,	,,	„red suture"	50°	3′	18
,,	,,	rosette	50°	8′	18
,,	,,	„X-disease"	50°	6 à 7′	7,8
,,	plante	„phony disease"	48°	40′	13
Framboisier	rhizome	rabougrissement	45°	1 à 3 h	38
,,	,,	,,	50°	5 à 60′	38
Herbe à éléphant	bouture	bigarrure chlorotique	52°	20′	3

TABLEAU II

Guérison de viroses par traitement à l'air chaud

Plante	Organe traité	Virose	Température	Durée du chauffage	Références
Fraisier	plante	frisolée	37°	7 à 11 j	27
,,	,,	„mild yellow-edge"	38°	8 j	5
Canne à sucre	bouture	rabougrissement	51°8 à 53°	13 h	16
,,	,,	,,	54°	8 h	35
Pêcher	plante	rosette et jaunisse	34°4 à 36°3	14 j	17
,,	,,	jaunisse	,, ,,	19 à 24 j	18
Framboisier	,,	balai de sorcière	40°	4 j	34
,,	,,	rabougrissement	40°	4 j	37
,,	rhizome	,,	46°	1¾ à 3½ h	38
Pomme de terre	tubercule	balai de sorcière	36°	6 j	20
,,	,,	enroulement	37°5	25 j	14,31
,,	,,	,,	44°	5 j	31
Pervenche rose	plante	balai de sorcière de la pomme de terre	42°	13 j	20
,,	,,	jaunisse de *Myrica caroliniensis*	42°	6 j	30
,,	,,	jaunisse de l'aster	38°	14 j	19
,,	,,	balai de sorcière de la luzerne	32°5	25 j	22
,,	,,	,,	40°	10 j	22
,,	,,	,,	42°	7 j	22
,,	,,	„false blossom"	42°	14 j	21
Airelle	,,	,,	42 à 43°	8 j	21

TABLEAU III

Production de pousses saines par des plantes virosées cultivées à températures élevées

Plante	Organe traité	Virose	Tempe-rature	Durée du chauffage	Réfé-rences
Datura stramonium	plante	mosaïque du concombre	36°	27 j	15
,, ,,	,,	,,bushy stunt" de la tomate	36°	23 j	15
Concombre	,,	mosaïque	36°	23 j	15
Tabac	,,	mosaïque du concombre	36°	23 j	15
,,	,,	,,	37°	28 j	9
,,	,,	,,aspermy" de la tomate	36°	21 j	15
,,	,,	,,ring spot"	36°	28 j	10
Tomate	,,	,,	36°	28 j	15
Abutilon	,,	panachure	36°	26 j	15
Œillet	,,	,,ring spot"	36°	24 j	15
,,	,,	mosaïque	40°	42 à 56 j	29
Chrysanthème	,,	mosaïque du concombre	37°	18 j	9
Pomme de terre	tubercule germé	virus Y	35-38°	diverses	36

Discussion des résultats

L'examen des trois Tableaux nous permet de faire les observations suivantes :

Pour une même virose, la durée du traitement décroît très rapidement pour une élévation de la température de quelques degrés.

Les traitements à l'air chaud semblent pouvoir s'appliquer à un plus grand nombre d'espèces végétales que le trempage dans l'eau chaude, qui paraît surtout convenir pour traiter des organes plus ou moins lignifiés.

Si les températures appliquées sont assez différentes selon la virose en cause pour les traitements par eau et par air non suivi de bouturage, au contraire, dans le cas de chauffage suivi de bouturage, la température utilisée est en général voisine de 37°.

Il semble bien que la guérison complète du matériel végétal traité par thermothérapie ne puisse être obtenue que dans le cas de virus présentant un faible coefficient thermique d'inactivation*

(*) La valeur de ce coefficient, pour un virus considéré, est en rapport direct avec la virulence de ce dernier déterminée après chauffage à des températures inférieures à sa température d'inactivation. Elle peut se calculer d'après la formule suivante :

$$Q_t = \frac{C_0 - C_T}{C_0 - C_{T-t}}$$

Q_t = coefficient thermique d'inactivation pour une différence de température de t°,
C_0 = concentration initiale du virus,
C_T = concentration du virus après chauffage à T° pendant un temps déterminé,
C_{T-t} = concentration du virus après chauffage à T° — t° pendant le même temps.

(2 et 28) ou une température d'inactivation *in vivo* inférieure à la température léthale de l'hôte*.

Cette dernière condition paraît être remplie pour diverses viroses du pêcher qui peuvent être guéries après quelques minutes de trempage dans l'eau chaude. Par contre, il est vraisemblable que l'on ne pourra jamais guérir entièrement, par thermothérapie, une plante infectée par le virus X ou par le virus de la mosaïque du tabac, parce que ces virus ont un coefficient thermique d'inactivation et une température d'inactivation élevés (1).

La production de pousses saines par des plantes virosées cultivées à haute température s'explique moins simplement. Différents travaux ont montré que la concentration en virus dans les tissus n'est pas constante, mais que cette concentration s'accroît, passe par un maximum et décroît plus ou moins rapidement par la suite. La concentration cellulaire en virus dépend donc, d'une part, de la capacité de la cellule à produire des particules-virus et, d'autre part, de la vitesse avec laquelle ces dernières sont désintégrées. Ces deux phénomènes paraissent dépendre principalement de la température ambiante. Il semble bien que, vers 36°, il n'y ait plus, dans bien des cas, de synthèse de virus (15) mais que la désintégration puisse se poursuivre au sein des cellules, ce qui expliquerait la guérison de certaines viroses ou l'obtention de pousses saines lorsque l'on soumet les sujets à cette température pendant un temps prolongé. *A priori*, il est vraisemblable que, en général, on pourra éliminer plus facilement les virus qui se présentent en faible concentration dans les plantes, pour autant que ces dernières résistent suffisamment longtemps à la température requise.

Ajoutons que toutes les variantes d'un même virus ne s'éliminent pas avec une égale facilité. Lorsqu'une plante est infectée par plusieurs variantes, il existe des cas où après le traitement par la chaleur on obtient des sujets, ou des organes, qui ne sont débarrassés que de certaines variantes, mais qui restent contaminés par une ou plusieurs autres variantes du même virus (9 et 10).

Conclusions

De l'exposé ci-dessus on peut conclure qu'il est possible de guérir un certain nombre de viroses végétales par thermothérapie. Aux affections, qui ont déjà été traitées avec succès par cette méthode, viendront vraisemblablement encore s'en ajouter par la suite de nombreuses autres pour autant qu'elles remplissent les conditions énumérées par nous pour la réussite de l'opération.

(*) La température d'inactivation d'un virus dépendant des conditions physico-chimiques du milieu dans lequel il se trouve, il est possible que la température d'inactivation *in vivo* soit différente de la température d'inactivation *in vitro* que l'on détermine d'habitude sur du jus de plante virosée ou sur une solution de virus purifié.

Malgré sa simplicité apparente, le traitement par la chaleur ne pourra être appliqué, en général, que par des laboratoires spécialisés. En effet, il exige un outillage précis et des soins très attentifs, car une proportion, parfois assez importante, des plantes ou des organes végétaux traités ne résiste pas au traitement et ceux qui y survivent ne sont pas toujours guéris. Il convient donc de pouvoir vérifier par des tests si la guérison est totale.

Du fait des difficultés qu'elle présente, la thermothérapie n'est donc recommandable, en général, que pour régénérer des variétés entièrement virosées de façon à en obtenir des sujets sains qui peuvent alors être le point de départ d'une sélection généalogique poursuivie à l'abri de toute nouvelle réinfection.

SUMMARY

Thermotherapy of virus diseases in plants

The author describes the techniques used in thermotherapy which have enabled to cure plants and vegetative reproduction organs initially virus-infected.

The most important applications of these techniques are mentioned, indicating in each case the method which has produced the best results.

Finally a parallel is drawn between the thermotherapy of virus diseases and, on the one hand, their thermic inactivation coëfficient, on the other, their multiplication in the plant.

ZUSAMMENFASSUNG

Thermotherapie der Pflanzenvirosen

Der Verfasser beschreibt die thermotherapeutischen Technike die es ermöglichen Pflanzen und vegetative Vermehrungsorgane vorher mit Viren infiziert, zu heilen.

Die wichtigste Anwendungsfälle dieser Technike werden angegeben mit Andeutung der erfolgreichsten Methode.

Der Verfasser zeigt eine Beziehung zwischen der Thermotherapie der Pflanzenvira, und, einerseits ihren thermischen Inaktivierungskoëffizient, anderseits, ihrer Vermehrung in den Pflanzen.

BIBLIOGRAPHIE

1. BAWDEN, F. C. — Plant viruses and virus diseases. *Waltham, Mass.*, U. S. A., 1950.
2. BAWDEN, F. C. — *J. Roy. Soc. Arts*, 1955, CIII, 436.
3. BRUEHL, G. W. — *Pl. Dis. Rep.* 1953, 34.
4. COOK, M. T. — Viruses and virus diseases of plants. *Burgess Publishing Co.*, Minneapolis, 1947, 187.
5. FULTON, R. H. — *Phytopathology*, 1954, 489.
6. GREENAWAY, S. — *Proc. Qd Soc. Sug. Cane Technol.*, 1954, 201.
7. HILDEBRAND, E. M. — *Contr. Boyce Thompson Inst.*, 1941, 485.
8. HILDEBRAND, E. M. — *Mem. Cornell agric. Exp. Sta.*, 1953, 323.
9. HITCHBORN, J. H. — *Ann. App. Biol.*, 1956, 590.
10. HITCHBORN, J. H. — *Virology*, 1957, 243.
11. HOUTMAN, P. W. — *Arch. v. Suikerind.* Nederl. Indie, 1925, 631.
12. HUGHES, C. G. — *Prod. Rev.*, 1953, 37.
13. HUTCHINS, L. M. et RUE, J. L. — *Phytopathology*, 1939, 12.
14. KASSANIS, B. — *Nature*, 1949, 4177, 881.
15. KASSANIS, B. — *Ann. App. Biol.*, 1954, 470.
16. KNUST, H. G. — *Proc. Qd Soc. Sug. Cane Technol.*, 1953, 131.
17. KUNKEL, L. O. — *Phytopathology*, 1935, 24.
18. KUNKEL, L. O. — *Phytopathology*, 1936, 809.
19. KUNKEL, L. O. — *Amer. J. Bot.*, 1941, 761.
20. KUNKEL, L. O. — *Proc. Amer. phil. Soc.*, 1943, 86, 470.
21. KUNKEL, L. O. — *Phytopathology*, 1945, 805.
22. KUNKEL, L. O. — *Phytopathology*, 1952, 27.
23. LAUDEN, L. — *Sug. Bull., N. Orleans*, 1953, 382.
24. MILLER, P. W. — *Pl. Dis. Rep.*, 1953, 609.
25. MOREL, G. et MARTIN, C. — *C. R. séances Acad. Sci.*, 1952, 235, 1324.
26. ORIAN, G. — *Rev. agric. Maurice*, 1954, 275.
27. POSNETTE, A. F., CROPLEY R. et ELLENBERGER, C. E. — *Annual Rep. East Malling Res. Sta.*, 1952, 128.
28. PRICE, W. C. — *Arch. ges. Virusforsch.*, 1940, 373.
29. QUAK. F. — *Tijdschr. o. Plzkt.* 1957, 13.
30. RAYCHANDHURI, S. P. — *Phytopathology*, 1953, 15.
31. ROLAND, G. — *Parasitica*, 1952, 150.
32. ROLAND, G. — *Meded. van de Landbouwhogesch. en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent*, 1955, 447.
33. ROLAND, G. — *Annales de Gembloux*, 1957, 13.
34. ROZENDAAL, A., THUNG, T. H. et VAN DER WANT, J. P. H. — *Proc. 7th Intern. Bot. Congress*, Stockholm, 1950, 710.
35. STEIB, R. J. et CHILTON, J. P. — *Sug. Bull.*, N. Orleans, 1956, 238.
36. THOMPSON, A. D. — *Nature*, 1956, 4511, 709.
37. THUNG, T. H. — *Meded. Dir. v. d. Tuinbouw*, 1952, 714.
38. THUNG, T. H. — *Tijdschr. o. PlZkt.*, 1952, 255.
39. WIEHE, P. O. — *Rev. agric. Maurice*, 1947, 138.
40. WILBRINK, G. — *Meded. Proefsta. Java Suikerind.*, 1923, I.
41. CANE DISEASES. — *Rep. Sug. Ind. Res. Inst.*, Mauritius, 1955, 44.

Prof. Estienne, Louvain

V : Le chauffage 3 jours à 42° des tubercules de pomme de terre (méthode Biourge préconisée dès 1930) ne rejoint-elle pas vos diverses méthodes de chauffage?

A : Je ne le crois pas car la méthode de Biourge visait à identifier les tubercules virosés et non à les guérir.

Prof. Dumon, Louvain

V : Serait-il possible de régénérer la variété de pomme de terre Rosa par une des méthodes envisagées?

A : Peut-être bien mais il faudrait probablement associer le traitement par la chaleur avec la culture de méristèmes in vitro.

Dr. K. Heinze, Berlin-Dahlem

V : Lässt sich auch ein Ausheilung von Viren durch Kaltebehandlung erreichen? Einige Viren vermehren sich bei Hiverbreitung der Temperatur sehr langsam.

A : Je ne connais pas de cas de guérison de virose sous l'action du froid.

ONDERZOEK VAN DE LUCHTSCHIMMELFLORA

door

R. Veldeman & W. Welvaert

Voor het onderzoek van de luchtflora en van het aeroplankton zijn meerdere metodes mogelijk en toegepast. Vanaf het eenvoudig blootstellen gedurende enige tijd aan de lucht van een voedingsbodem in petrischalen, tot de meer efficiente ,,spore-trape'' door Hirst ontworpen. Naar gelang het onderwerp van het onderzoek zal men met een minder of meer nauwkeurige metode dienen te werk te gaan.

Wat ons opzet betreft, willen we vooreerst gedurende een periode van tenminste een seizoenwisseling een zo volledig mogelijk beeld van de schimmelflora bepalen, dit in het kader van ons opzoekingswerk van het station. Daarbij worden tevens dagelijks temperatuur, vocht en regen opgetekend, wat ons zal toelaten de invloed van de weersomstandigheden op de luchtflora na te gaan.

Terzelfdertijd schenken we meer aandacht aan de aanwezigheid van Dothichiza sporen, en meer bepaald de invloed van de weersomstandigheden en van de seizoenwisseling op de verspreiding van de sporen, terwijl de infektiemogelijkheden nochtans een afzonderlijk probleem uitmaken.

Voor deze beide onderwerpen bleek een toestel in de zin van de ,,spore-trape'' van Hirst het meest doeltreffend. Hierbij wordt een gekend debiet lucht over een draagglaasje gezogen dat met een kleefstof wordt bestreken en waarbij de in de lucht aanwezige sporen en stofdeeltjes op het glaasje worden vastgelegd. Deze glaasjes worden dan ofwel rechtstreeks bekeken onder het mikroskoop ofwel afgewassen in steriel water en op een voedingsbodem uitgeplaat.

Het rechtstreeks bekijken onder het mikroskoop kan wel effektief zijn voor het nagaan van karakteristieke sporen als Venturia (Schurft), Alternaria, Fusarium sporen, roesten en dergelijke meer, doch voor het bepalen van de totale flora heeft men hier af te rekenen met een massa ééncellige sporen welke niet als dusdanig kunnen gedetermineerd worden. Derhalve hebben we door het uitplaten dezer sporen de kulturen hiervan gewonnen en ze aldus bepaald.

Ons onderzoek in deze zin is slechts in een aanvangsstadium

en deze bijdrage beoogt dan ook niets anders dan onze werkmetode voor te stellen en te toetsen aan onze eerste resultaten. Daarna kunnen verdere toepassingsmogelijkheden onderzocht worden.

Het toestel of de sporenvanger

Bestaat uit een klok voorzien van een opening waardoor bij middel van een zuigpompje regelmatig lucht wordt gezogen aan 10 liter/minuut. Tegenover de opening van 1,5 cm breed en 2 mm hoog glijdt een draagglaasje bestreken met een kleefstof. Het glaasje verplaatst zich, opgetrokken door een uurwerk met een bepaalde snelheid.

Wij nemen een snelheid van 8 mm per uur, zodanig dat de aanwezige sporen en stofdeeltjes niet te veel op mekaar komen te liggen. Het toestel staat op een statief van ongeveer 2 meter hoogte en de opening wordt door een windvlag steeds tegen de windrichting in gedraaid. Een plaat in alluminium van ± 50 × 50 cm waarop meteen de zuigmotor en het uurwerk staat gemonteerd beschermt de opening tegen de regen. Een plastieken kap zit over het geheel om het tegen regen te beschermen.

Het onderzoek van de preparaatglaasjes

Daar het glaasje zich regelmatig verplaatst gedurende de waarneming is het mogelijk reeds hier de variaties gedurende de waarnemingstijd (6 u.) na te gaan. Dit ware in verband met ascosporenvlucht van Venturia reeds een interessante mogelijkheid om de invloed van bv. regenvlagen na te gaan. Dit valt echter voorlopig buiten ons opzet, en wij zien in het verplaatsen van het draagglaasje eerder een wijder uit elkaar liggen van de opgevangen sporen en stofdeeltjes en aldus gemakkelijker mikroskopisch nazicht.

De behandeling der draagglaasjes gebeurt voor zover zulks mogelijk is steriel t.t.z. de glaasjes worden ontvet en in de vlam gehouden voor ze in het toestel worden gebracht. Bij het in en uitnemen zijn geen speciale voorzorgsmaatregelen genomen en voor het verder verhandelen worden ze in een afscherming gesloten om aldus de blootstelling aan meerdere luchtsporen te voorkomen. Ongetwijfeld zal de behandeling en het nazicht onder het mikroskoop het aantal Penicillium en Cladosporium spp. wel verhogen.

Het rechtstreeks bekijken onder het mikroskoop biedt natuurlijk het voordeel dat men onmiddellijk resultaten heeft. Inzake schurftbestrijding zou de aanwezigheid van ascosporen Venturia onmiddellijk kunnen vastgesteld worden. Verder zouden roesten en Helminthosporium, waarover reeds meerdere studies werden gemaakt, eveneens omwille van hun karakteristieke sporen kunnen herkend worden.

Wanneer we anderzijds de aanwezigheid bemerken van een massa ééncellige sporen kan alleen het winnen van de kulturen de bepaling ervan mogelijk maken. In dit verband is het nagaan van de aanwezigheid van Dothichizasporen onmogelijk gemaakt door de steeds aanwezige sporen van Botrytis welke van elkaar niet te onderscheiden zijn.

We hebben derhalve voor onze studie een uitplatingsmetode aangewend waarmede we reeds een reeks schimmels isoleerden die zeker aan het beeld van hun opgevangen sporen niet te determineren waren. Daarnaast kan ook nog gezegd dat op het draagglaasje steeds een bepaalde hoeveelheid stofdeeltjes opgevangen worden welke dragers kunnen zijn van sporen die aldus niet rechtstreeks kunnen gezien worden. Bij het uitplaten kunnen deze allen tot ontwikkeling komen en dus bepaald worden. Anderzijds moet toegegeven dat bepaalde schimmels op kunstmatige bodems niet of moeilijk groeien als bv. de roesten of zelfs na uitgroei moeilijk sporuleren (bv. Basidiomycetes) en dus als niet gedetermineerde kulturen opgetekend worden.

Verder dient ook nog vermeld dat we bij onze luchtisolaties het aeroplankton natuurlijk volledig isoleren, doch we ons enkel beperken tot het bepalen van de schimmels waarbij we zelfs door toevoegen van Streptomycine in de uitplaatbodem de bacteries trachten te weren.

De kleefstof

Bij rechtstreeks bekijken van de sporen op het draagglaasje heeft de kleefstof waarin de sporen worden opgevangen minder belang. Dikwijls wordt dan vaseline, glycerine of vloeibare paraffine gebruikt. Bij ons komt het er echter op aan vooreerst de opgevangen sporen niet te schaden door eventuele ontwatering, en daarbij een kleefstof te gebruiken die omwille van de verdere uitplatingstechniek in water oplosbaar is.

— met vaseline en paraffine komen de sporen moeilijk los van het glaasje voor verdere uitplating;

— met glycerine komen de sporen wel los in water doch bij kiemingsproeven op Fusarium en Dothichiza sporen bleken deze volledig gedood en kwamen niet meer tot ontwikkeling.

— een oplossing van ,,Oxydwas'' in water gaf ons de meest bevredigende resultaten.

Uit kiemingsproeven op dezelfde sporen bleek deze oplossing doeltreffend :

— geen misvorming door deshydratie;

— het onderdompelen gedurende 24 u. van de sporen zelfs in hoge was-concentratie gaf geen remming op de kieming;

— verder heeft de kleefstof het voordeel zeer gemakkelijk op te lossen in water en aldus de sporen vrij te laten voor het uitplaten.

Als nadeel moet echter gezegd dat bij te hoge concentratie de tijd dat de was kleverig blijft enigszins beperkt wordt, vooral bij droog weder.

Het bepalen van de schimmels

Het rechtstreeks bekijken in het mikroskoop van de draagglaasjes liet ons goed toe de aanwezigheid van verschillende karakteristieke sporen vast te stellen. Het afzoeken nochtans van een preparaatje van 50 × 15 mm met een betrekkelijk sterke vergroting, dus met beperkt gezichtsveld is een zeer tijdrovend werk. Anderzijds stellen we vast dat, op de roestsporen na, de opgemerkte sporen regelmatig bij de uitplatingen terggevonden worden zodat we dan ook vrij vlug het rechtstreeks onderzoek in die zin hebben opgegeven.

We beperkten ons dan verder tot het opzoeken in het preparaatje van de eventuele Botrytis of Dothichiza sporen. We wezen reeds op de zeer grote gelijkenis tussen beide sporen zodat deze niet kunnen onderscheiden worden. Daar nu echter Botrytis veel gemakkelijker in kultuur uitgroeit dan Dothichiza kunnen we aannemen dat wanneer een dergelijke spore op het draagglaasje gezien werd en geen Botrytis noch Dothichiza tot ontwikkeling kwam er veel kans bestaat dat we met Dothichiza sporen te doen hadden. Tot hiertoe bleek zelfs deze maatregel overbodig, daar we meestal Botrytis terugvonden. Deze vaststellingen gezien in het kader van ons opzet nl. de bepaling van de luchtschimmelflora en de verspreiding van Dothichizasporen hebben we gemeend verder rechtstreeks onderzoek van het draagglaasje te mogen stopzetten en aldus weliswaar sommige schimmels te verliezen maar anderzijds bijkomende blootstellingen aan de luchtschimmels in het laboratorium te vermijden.

Voortaan wordt de flora dan alleen nog bepaald door het winnen van de kulturen op voedingsbodems in petrischalen. Als voedingsbodem nemen we een betrekkelijk rijke bodem met daarin appelsiensap gemengd. Reeds bij vroegere uitplatingen bleek hierop het grootste aantal schimmels te groeien, en de uitgroei van Dothichiza op deze bodem is eveneens zeer bevredigend. Daarnaast heeft deze bodem het voordeel dat de voorkomende Penicillium en Cladosporium kulturen niet te veel uitgroeien en aldus eventueel andere schimmels zouden overgroeien. Dit kan echter niet gezegd voor Mucoraceae, Monilia en zelfs Botrytis kulturen.

Het uitplaten van elke waarneming in 8 petrischalen geeft een goede verdeling van de kulturen die zelfs meerdere weken

in de schaal uitgroeien en meestal in de schaal zelf rechtstreeks bekeken en bepaald worden.

Het mengen van de sporen in de kultuurbodem gebeurt als volgt : in kleine erlenmeyers van 100 cm^3 met brede hals wordt het draagglaasje na doorbreken in een 10-tal cm^3 steriel water afgespoeld. We wezen reeds op het belang van de kleefstof die zulks mogelijk maakt. Hierbij voegen we enkele cm^3 van een Streptomycineoplossing om bacteries te weren.

In het begin mengden we dit water dat de sporen bevatte in handwarme voedingsbodem en verdeelden deze daarna in de 8 schalen. Bij deze bewerking was de handwarme voedingsbodem ($\pm$ 40° C.) op het randje van opstijven wat moeilijk een gelijkmatige verdeling toeliet. Daarom gaan we thans als volgt te werk : de voedingsbodem wordt zeer warm in de steriele petrischalen verdeeld en stijft op met een volledig vlak en horizontaal oppervlak. Daarna wordt de sporensuspentie verdeeld over de 8 schalen en vormt dan een waterfilmpje waarin de sporen over de oppervlakte verdeeld liggen. Na een paar dagen is dit filmpje opgedroogd terwijl intussen de sporen in de voedingsbodem gegroeid zijn. Aldus bekwamen we een merkelijk hoger aantal kulturen dan in vorige metode. Alleen heeft men hier soms last van enkele gistkulturen.

Het bepalen

De kulturen worden meestal bepaald rechtstreeks in de schalen. Immers de Penicillium en Cladosporium kulturen welke het overwegend aantal uitmaken kunnen vrij vlug herkend worden. Terwijl de meeste andere kulturen na een paar weken voldoende uitgegroeid zijn om gedetermineerd te worden. Kulturen welke na een 3-4 tal weken nog niet sporuleren of bedreigd worden overgroeid te geraken worden dan afgeënt in proefbuisjes voor verdere uitgroei. De metode de kulturen rechtstreeks in de schalen te bepalen biedt ongetwijfeld het voordeel veel werk van af enten uit te sparen, doch anderzijds kunnen de soms geweldige uitgroei van enkele schimmels als Mucoraceae, Botrytis en de dikwijls opgevangen Monilia sitophila hun aantal moeilijk te bepalen maken. In zulk geval kan men in eenzelfde schaal bv. van Botrytis enkele uitgangspunten terugvinden of zoals bv. voor Monilia wordt tenminste het aantal genomen van de schalen die begroeid zijn. De aanwezigheid van Monilia die geweldig uitgroeit bracht vaak het gevaar mee van infekties, van ganse reeksen en zelfs van gans het laboratorium. Afzondering van begroeide schalen en beletten van luchtverplaatsingen konden hierin veel verhelpen.

Eerste waarnemingen

Het apparaat kwam ter onzer beschikking einde januari en werd als proef opgesteld op een klein terras op de tweede verdieping hier op de Rijkslandbouwhogeschool. Gedurende een 3-tal weken werden isolaties gedaan waarbij het eerder onze bedoeling was het apparaat te testen en de kleefstof voor het instrijken van de glaasjes na te gaan.

De tijdsduur van de waarnemingen, die thans met een kontakt-uurwerk bepaald wordt, was hier meer wisselvallig, zodat de eerste resultaten onderling niet mogen vergeleken worden. Nochtans is het wel meldenswaardig dat niettegenstaande de reeds betrekkelijke hoogte en meerdere regen- en sneeuwvlagen gedurende de waarnemingen een 30-tal verschillende schimmels werden geisoleerd. Het grootste aantal bestond uit Penicillium, Cladosporium, Monilia en Botrytis. Daarnaast komen Mucoraceae, Aspergillus, Trichoderma, Alternaria, Phoma en Geomyces enkele malen voor terwijl de andere species meer toevallig voorkomen.

Onze definitieve standplaats voor de dagelijkse proefnemingen bevindt zich in een tuin te St. Martens-Latem. Aldus staat de sporenvanger opgesteld in een terrein van afwisselend landbouwgrond en enkele moestuinen en niet te veel ingesloten door gebouwen.

Terzelfdertijd worden plaatselijk temperatuur en vocht in een thermometerhut met een thermohydrograaf opgetekend terwijl de weersgesteldheid gedurende iedere waarneming ter plaatse eveneens wordt aangetekend. Daarnaast hebben we uit de gegevens van het Sterrenkundig Instituut te Gent het geheel der weersgesteldheid gedurende de voorafgaande periode. We voorzien trouwens zelf nog de opstelling van een pluviograaf ter plaatse. Immers de vochtigheid en neerslag zijn zowel voor het vrijkomen als voor de verspreiding van vele schimmelsporen van groot belang.

We geven hierbij de isolaties gedaan van 18 maart tot 13 april. De onderlijnde nummers zijn waarnemingen 's nachts van 2 tot 8 uur, de niet onderlijnde nummers overdag van 9 tot 15 uur. In een tweede tabel geven we de weersgesteldheid zoals ze werd opgenomen door het Sterrenkundig Instituut en daarnaast onze eigen aantekeningen gedurende de waarnemingen.

<table>
<tr><th rowspan="2">Datum</th><th rowspan="2">Waar-neming</th><th rowspan="2">Gemid-delde tempera-tuur</th><th colspan="3">Weergesteldheid</th><th rowspan="2">Weergesteldheid gedurende de waarneming</th></tr>
<tr><th>Morgen</th><th>Middag</th><th>Avond</th></tr>
<tr><td>18.8</td><td>1
2</td><td>12.45</td><td>Betrokken</td><td>Opklaren</td><td>Schoon</td><td>Betrokken
Helder</td></tr>
<tr><td>19.8</td><td>3
4</td><td>11.60</td><td>Betrokken</td><td>Betrokken</td><td>Betrokken</td><td>Betrokken
Helder</td></tr>
<tr><td>20.8</td><td>5 D
6</td><td>11.95</td><td>Schoon</td><td>Betrokken</td><td>Schoon</td><td>Helder
Helder</td></tr>
<tr><td>21.8</td><td>7
8</td><td>8.50</td><td>Betrokken</td><td>Betrokken</td><td>Schoon</td><td>Helder
Helder + regen</td></tr>
<tr><td>22.8</td><td>9 D
10</td><td>9.15</td><td>Schoon</td><td>Schoon</td><td>Schoon</td><td>Helder
Helder</td></tr>
<tr><td>23.8</td><td>11</td><td>10.90</td><td>Mist</td><td>Regen</td><td>Betrokken</td><td>Betrokken</td></tr>
<tr><td>24.8</td><td>12 D</td><td>11.90</td><td>Betrokken</td><td>Betrokken</td><td>Betrokken</td><td>Mistig</td></tr>
<tr><td>25.8</td><td>13 D</td><td>11.35</td><td>Schoon</td><td>Schoon</td><td>Schoon</td><td>Betrokken</td></tr>
<tr><td>26.8</td><td>14 D</td><td>10.90</td><td>Regen</td><td>Regen</td><td>Betrokken</td><td>Helder</td></tr>
<tr><td>27.8</td><td>15 D
16</td><td>11.30</td><td>Regen</td><td>Regen</td><td>Betrokken</td><td>Motregen
Motregen</td></tr>
<tr><td>28.8</td><td>17
18 D</td><td>10.15</td><td>Betrokken</td><td>Schoon</td><td>Schoon</td><td>Regenachtig
Helder</td></tr>
<tr><td>29.8</td><td>19
20</td><td>7.90</td><td>Mist</td><td>Schoon</td><td>Schoon</td><td>Mistig
Helder</td></tr>
<tr><td>30.8</td><td>21</td><td>5.15</td><td>Mist</td><td>Betrokken</td><td>Betrokken</td><td>Mist</td></tr>
<tr><td>31.8</td><td>22</td><td>8.06</td><td>Nevel</td><td>Schoon</td><td>Schoon</td><td>Klaar zonnig</td></tr>
<tr><td>1.4</td><td>23
24</td><td>9.00</td><td>Mist</td><td>Schoon</td><td>Schoon</td><td>Helder 's morgens mist
Zonnig</td></tr>
<tr><td>2.4</td><td>25
26 D</td><td>8.50</td><td>Mist</td><td>Schoon</td><td>Schoon</td><td>Mist
Helder</td></tr>
<tr><td>3.4</td><td>27 D
28</td><td>9.30</td><td>Betrokken</td><td>Schoon</td><td>Schoon</td><td>Zonnig
Morgen mist</td></tr>
<tr><td>4.4</td><td>29
30</td><td>10.10</td><td>Mist</td><td>Schoon</td><td>Schoon</td><td>Zonnig
Helder dauw</td></tr>
<tr><td>5.4</td><td>31
32</td><td>14.95</td><td>Nevel</td><td>Z. schoon</td><td>Z. schoon</td><td>Zonnig
Helder dauw</td></tr>
<tr><td>6.4</td><td>33</td><td>8.45</td><td>Betrokken</td><td>Betrokken</td><td>Schoon</td><td>Betrokken + zon</td></tr>
<tr><td>7.4</td><td>34 D</td><td>8.35</td><td>Betrokken</td><td>Betrokken</td><td>Schoon</td><td>Helder mist</td></tr>
<tr><td>8.4</td><td>35 D
36</td><td>7.10</td><td>Schoon</td><td>Z. schoon</td><td>Z. schoon</td><td>Zonnig, veel wind
Helder mist</td></tr>
<tr><td>9.4</td><td>37
38</td><td>6.20</td><td>Betrokken</td><td>Schoon</td><td>Schoon</td><td>Zonnig
Helder</td></tr>
<tr><td>11.4</td><td>39 D</td><td>6.15</td><td>Hagel en regen</td><td>Schoon</td><td>Schoon</td><td>Regen</td></tr>
<tr><td>12.4</td><td>40 D</td><td>5.15</td><td>Schoon</td><td>Hagel</td><td>Hagel</td><td>Zonnig + buien</td></tr>
<tr><td>13.4</td><td>41 D</td><td>4.75</td><td>Hagel</td><td>Hagel</td><td>Hagel</td><td>Zonnig + buien</td></tr>
</table>

	ISOLAT																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Penicillium	32	76	35	44	29	95	56	119	48	32	59	18	25	59	29	41	22
Cladosporium	4	12	—	6	2	114	90	21	51	22	41	38	32	190	54	40	18
Botrytis	—	—	—	1	—	42	20	2	34	19	27	5	18	26	25	25	5
Monilia	2	—	—	—	—	2	—	3	—	1	4	4	1	8	1	1	5
Trichoderma	10	3	4	1	—	34	6	3	1	1	1	1	—	2	1	—	11
Stysanus	1	—	—	—	7	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—
Humicola	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Aspergillus	1	1	2	1	—	—	1	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—
Phoma	1	—	—	2	—	6	—	—	—	1	4	1	3	2	4	8	2
Fusarium	2	—	3	6	1	—	—	20	9	6	5	2	13	6	6	4	2
Geomyces	1	1	2	1	—	—	—	4	—	6	2	2	4	—	—	—	—
Verticillum	2	2	1	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Rhizopus	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
Pullularia	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Scopulariopsis	2	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
Gliomastix	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pestalotia	1	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—
Sporotrichum	—	5	5	2	1	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—
Spicaria	—	6	2	4	2	—	5	3	1	—	9	—	—	—	—	—	2
Chaetomium elatum	—	1	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Aspergillus niger	—	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	—
Niet spor. kulturen	—	1	—	—	—	1	1	1	5	—	—	—	—	—	—	—	—
Mucor sp.	—	—	3	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	1	—
Chaetomium contortum	—	—	1	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	—	1	—	—
Cephalosporium	—	—	2	1	1	—	—	—	7	9	2	—	2	—	—	1	2
Mucor plumbeus	—	—	1	—	4	—	2	—	—	—	—	—	—	—	7	—	—
Oidium	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Papularia	—	—	—	—	1	—	—	—	—	2	—	1	—	—	—	—	—
Dothichiza	—	—	—	—	1	—	—	—	1	—	—	3	4	4	2	—	—
Acrostalagmus	—	—	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Torula	—	—	—	—	—	—	7	—	—	1	—	—	—	—	—	1	—
Alternaria	—	—	—	—	—	—	—	1	—	3	—	—	2	—	6	2	—
Trichothecium	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—
Diplodia	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	5	—	—	—	—
Cytospora	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—
Dinemosporium	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—
Phomopsis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
Stagonospora	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
Fusarium scirpi	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pyrenochaeta	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Macrospora	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Stemphylium	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Dicoccum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Aspergillus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Stachybotrys	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Periconia	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Paecilomyces	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Totaal	66	109	64	74	55	303	183	180	163	104	155	76	112	304	134	127	72

20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41
15	34	107	33	67	52	21	41	30	9	65	36	35	41	40	59	98	27	38	23	17	21
73	72	23	19	79	76	19	54	49	24	28	73	53	70	39	39	36	43	31	57	40	37
10	20	1	12	13	21	—	20	22	4	—	3	16	24	19	10	2	10	15	26	29	5
3	5	7	8	7	7	5	3	2	11	9	4	8	—	11	—	7	—	1	—	1	1
4	5	2	6	—	2	1	2	—	6	—	—	—	1	2	—	—	—	2	—	—	1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1	1	—	1	—	—	—	—	2	1	—	3	8	2	—	1	3	1	3	13	6	6
—	—	—	2	—	—	1	1	—	—	—	1	—	4	1	2	1	—	—	—	—	—
1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2	2	1	1	—	2	6
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	2	5	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	1	1	1	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	2	—	—	—	—	1	1	—	—	—	—	1	—	—	1	—	2	1	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	1	6	9	14	7	8	15	13	15	1	4	—	10	4	2	9	6
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—
—	1	2	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—
—	1	4	5	9	2	2	—	3	5	19	6	7	—	—	—	1	1	—	3	—	1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	6	2	2	—	11	2	—	—	—	—	2	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	1	1	—	—	—	—	—	—	2	1	—	—	—	6	6	7
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	—	—	—	1	—	3	—	1	3	—	5	—	3	1	1	1	2	4	1	—	7
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	2
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	—	—	—	1	—	9	1	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	1	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
114	154	154	88	180	173	63	133	127	70	129	153	130	162	122	123	162	112	102	132	113	101

Eerste waarnemingen omtrent de verspreiding van Dothichiza sporen (periode van 18 maart tot 13 april)

In verband met de verspreiding van Dothichiza vermelden we de aanwezigheid op het terrein van een rij italiaanse populieren, alsmede 60 Populus robusta sp. daar aangeplant voor infektieproeven. Terzelfdertijd werden ook een rij sterk door Dothichiza aangetaste takken van populier opgesteld, waarop meteen het buitenkomen van de sporen uit de vruchtlichamen gekontroleerd wordt. Deze staan op ± 10 m van de sporenvanger. Dit takhout kwam ter plaatse op 26 maart en dan waren reeds heel wat vruchtlichamen bedekt met uitstulpende sporenmassa's. Het uitbreken van deze sporen volgt getrouw iedere stijging in vochtgehalte van de lucht, door mist, rijm of regen. Deze vruchtlichamen alsmede de nieuwgevormde infekties zullen zolang mogelijk gekontroleerd worden.

Op 18 maart namen we de eerste luchtmonsters te St. Martens-Latem en in de isolatie van 20 maart over dag na een betrokken nacht, isoleerden we voor het eerst Dothichiza. We merken op dat het geinfekteerde takhout toen nog niet ter plaatse was.

De verdere isolaties van Dothichiza zijn aangeduid door ,,D'' naast het nummer der waarneming in de voorgaande tabellen en bevinden zich natuurlijk ook bij de totale luchtflora.

De verspreiding van de sporen zal de seizoenen door worden nagegaan en later worden medegedeeld.

SAMENVATTING

Bij de verspreiding van allerlei plantenziekten is de aanwezigheid van schimmelsporen in de lucht een belangrijke faktor. Wij hebben dan ook een aanvang gemaakt met de studie van deze flora door regelmatige isolaties. Hierbij trachten wij de invloed na te gaan van de weersomstandigheden op de samenstelling van de luchtflora, de invloed van naburige besmettingshaarden en meteen bij een aanplanting van populieren de aanwezigheid van Dothichizasporen in de lucht met eventuele infekties in verband te brengen.

De monstername gebeurt met een draagglaasje dat voor een kleine opening verschuift in een klok waarin regelmatig lucht gezogen wordt aan een gekend debiet.

Daar op het draagglaasje naast stofdeeltjes veel ééncellige sporen voorkomen, worden deze draagglaasjes in steriel water afgespoeld hetwelk dan in kultuurbodems gemengd wordt en uitgeplaat. De aldus geïsoleerde schimmels vertonen een zeer grote verscheidenheid ofschoon we wel toegeven dat sommige schimmels als bv. roesten aldus moeilijker kunnen teruggevonden worden.

Deze studie ingeschakeld in ons normaal werk van het station voor plantenziekten is slechts een aanvang van een lange reeks waarnemingen waaruit we mettertijd belangrijke aanduidingen zullen kunnen afleiden.

RESUME

Etude de la flore aérienne

La présence de spores dans l'air est d'un très grand intérêt pour la propagation des maladies des plantes. L'étude de la flore aérienne a débuté par des isolations quotidiennes. Nous essayons de constater l'influence des facteurs météorologiques sur la dissémination de divers champignons ainsi que l'influence des foyers d'infection. En même temps, l'appareil étant installé dans une plantation de jeunes peupliers, nous envisageons la présence des spores de Dothichiza en rapport avec les infections sur les arbres.

Pour les isolations des spores nous avons construit un appareil muni d'un aspirateur, conduisant un débit d'air par un porte-objet collant, qui se déplace devant l'entrée de l'air.

Quant à la prospection directe des porte-objets sous le microscope, elle est difficile à cause de la présence de poussière et beaucoup des spores unicellulaires. C'est pour cela que nous essayons de cultiver les champignons en boîtes de pétri.

Ainsi nous avons déjà isolé une flore très variée de champignons quoi qu'il faut avouer que certaines espèces comme par exemple les rouilles, ne se laissent pas facilement isoler dans les milieus de culture.

C'est bien notre intention de poursuivre les isolations durant une longue période, ce dans le cadre des recherches de la Station de Phytopathologie, pour arriver à des résultats basés sur de nombreuses observations.

SUMMARY

Study of the fungus flora in the air

The first results obtained with an automatic volumetric sporetrap operating in a field planted with poplars are given. The spores were trapped on slides coated with wax soluble in water, and mixed in a culture medium for their growing and determination.

Direct microscopical examinations enable only to determine the possible presence of spores of Dothichiza. Because these spores are identical with spores of Botrytis, we could only decide upon the species after culturing.

The effects of weather and the presence of sources of infection were observed. The observations to control the spread of Dothichiza are being continued.

ZUSAMMENFASSUNG

Untersuchungen über die Luftfungusflora

Es sind Forschungen über die in der Luft befindlichen Sporen angefangen. Dazu wurde ein automatischer volumetrischer Sporenfänger in eine junge Pappelanpflanzung aufgestellt wobei das Vorkommen von Dothichiza geprüft werden soll. Die Einflüsse vom Wetter und der Anwesenkeit von Infektionsbrunnen sind ebenfalls studiert worden.

Die Sporen wurden auf mit wasserlöslichen Wachs beschmierten Objektgläser aufgefangen und zwecks Bestimmung in ein Kulturmedium gemischt. Da nur die direkte mikroskopische Untersuchung der Objektgläser die mögliche Anwesenkeit von Dothichizasporen nachwiesen kann und diese aber identisch sind mit Botrytissporen sind sie erst nacht Kulturisierung genau zu bestimmen.

Diese Forschungen müssen weiter durchgeführt werden.

THE CONTROL OF BOTRYTIS CINEREA ON LETTUCE BY THE USE OF GRISEOFULVIN

by

J. A. Gathercole

The Murphy Chemical Co. Ltd. — Wheathampstead — Hertfordshire — England

Griseofulvin was first made available to the Murphy Chemical Company in 1955 and tests were immediately arranged to estimate efficiency against Botrytis cinerea on lettuces. The material was used as a 3% dust in all cases before planting and in all except one after planting, when a 3% Atomising Concentrate was used. In the trial illustrated, the lettuces were treated in the seed boxes with a 3% dust, and then with 20 lbs. per acre of a 3% after planting. Illustration 1. shows a bed representing the treated area where 4.2% were missing at the time of harvesting, and illustration 2. shows an untreated bed in the next house where 13.2% were lost. Samples of lettuce from adjacent treated and untreated area showed that the treated plants were 5% heavier than the untreated.

Plate I — Treated twice before planting and twice after with a 3 % griseofulvin dust : 4.2% loss.

Plate II. — An untreated area comparable with Plate I. 13.2% loss.

TABLE I

Results for 1956/57. All treatments with 3% griseofulvin dust unless otherwise stated

Trial No.	Type of Glass	Principal Dates				Percentage of Lettuce Plants Missing or Sufficiently Badly Infected with Botrytis to Prevent Harvesting				Remark
						Treated				
		Treatments Before Planting Out	Planted Out	Treatments After Planting Out	Harvested	Before Planting Out	After Planting Out	Before and after Planting Out	Untreated	
1	Slight heat	14. 9.56 26. 9.56	1.10.56	11.10.56 6.11.56	6.12.56	25.5	17.25	—	—	
2	Heated			9.10.56 24.10.56 27.11.56	12.12.56	—	21.0	—	40.0	
3	Slight heat	14. 9.56	17. 9.56	26. 9.56 11.10.56 6.11.56	12.12.56	7.8	6.2	4.3	7.2	
4	Cold	23.10.56 7.11.56	9.11.56	29.11.56 14. 1.57	13. 2.57	15.5	9.6	9.6	15.3	
5	Cold			13.11.56 18.12.56 22. 1.57	11. 3.57	—	25.0	—	34.0	
6	Cold	20.10.56 17.11.56	21.11.56	5.12.56* 22.1.57*	26. 2.57	16.2	8.0	8.5	16.2	*Low vol using sol formulat after pl ing. Botrytis undersid of tre plants
7	Cold	1.11.56 27.11.56	21.12.56	1. 1.57 5. 2.57 8. 3.57	1. 4.57	13	17	11	26	
8	Cold	22.10.56 7.11.56	14.11.56	28.11.56 18. 1.57	27. 2.57	8.5	9.0	7.0	11.5	
9	Cold	20.10.56	3.11.56	27.11.56 1. 1.57 5. 2.57	15. 3.57	70.5 71.0	45.3* —	50.0* 56.5	66.2 66.2	*Low vol using sol formulat after p ing. H aphis a
10	Cold Dutch Light	8.11.56	24.12.56	2. 1.57 6. 2.57 6. 3.57	19. 4.57	11	5.5	6	9	Crop tacked Downy dew
11	Cold	—	30. 1.57	5. 2.57 27. 3.57	19. 4.57	—	2.2	—	7	

A second site was illustrated where Atomising Concentrate was used after planting instead of the dust.

In another trial, as well as in these two, it was observed that there was less waste due to rotting on the undersides of the plants.

This succes encouraged us to test the material on a wider scale on the winter lettuce crop in 1956. Twenty-one trials were started from August onwards to demonstrate in as many areas as possible that griseofulvin is capable of decreasing the losses of lettuces before harvesting, thus making available more lettuces for the market.

Of the 21 trials started, two have not yet finished, three gave us no result because of damage from other causes than Botrytis, four were not attacked by Botrytis, and one gave a negative result. The remaining eleven gave positive results.

These results show the percentage of plants lost at harvesting following the various treatments. The trials were designed to assess the reduction of losses of lettuces treated both in the seed boxes and after planting, and of lettuces treated in the seed boxes only, and of lettuces treated after planting only. All trials except number one were compared with similar untreated area. It can be seen that the greatest advantage is shown on the plants treated both in the seed box and after planting, but the losses from the areas treated after planting only are very little greater than these. There is also very little difference between the treatment before planting only and the untreated areas.

For this we have deduced that little advantage is obtained by treating only in the seedboxes, but that the treatment planting can be made more effective if the seedlings are also treated.

Plate III. — Treated twice before planting and twice after. 8.5% loss.

Plate IV. — An untreated area. 16.2% loss.

Treatments were made at approximately monthly intervals throughout the life of the crop in all trials. 14 lbs. of a 3% griseofulvin dust was used per acre per application, except in trials 6 and 9a, where the equivalent of griseofulvin in a soluble formulation was applied by a low volume technique.

Illustrations 3 and 4 show comparable areas of trial 7 treated and untreated.

TABLE II

Estimated monetary gain per acre from the use of griseofulvin in the 1956/57 series of trials on lettuce

Trial No.	Pounds of 3% Dust Used Per Acre	Pounds of Technical Griseofulvin Used Per Acre	Approximate Cost of the Treatment Per Acre	Value of the Crop Per Acre (Estimated)				Nett G[...] Per Ac[...]
				Assuming 100% Cut	On the Untreated Area	On the Treated Area	Increase	
1	35	1.05	£23–£35	£1500	£1118**	£1240	£122	£87–£
2	45	1.35	£30–£45	£1500	£1351	£1433	£82	£37–£
3	47	1.4	£31–£47	£1500	£1392	£1435	£42	Loss o[...] to gain £11
4	35	1.05	£23–£35	£1500	£1271	£1356	£85	£50–£
5	45	1.35	£30–£45	£1500	£1000	£1125	£125	£80–£
6	LV*	1.05	£23–£35	£1500	£1257	£1372	£115	£80–£
7	52	1.56	£35–£52	£1500	£1110	£1335	£225	£173–£1
8	38	1.14	£25–£38	£1500	£1328	£1395	£67	£29–£
9	LV*	1.47	£33–£48	£1500	£507	£750	£243	£193–£2
	48	1.47	£33–£48	£1500	£507	£672	£165	£117–£1
10	38	1.14	£25–£38	£1500	£1365	£1410	£55	£17–£
11	32	0.94	£21–£32	£1500	£1385	£1467	£82	£51–£

* *Dust applied* before *planting and low volume wet spray* after *planting.*
** *This is the area treated before planting : there was no untreated area in this trial.*

Table II shows the maximum return per acre on the untreated areas with the increase in value given by the griseofulvin. In all cases except trial three the increase in value more than covers the cost of the griseofulvin at 1/6d. per gram, although in this case the trial shows a profit if the price of the griseofulvin is reduced

to 1/-per gram. The price of griseofulvin has now been fixed at 1/- per gram.

In trials 6 and 7, an estimation was made of quality. Table III summarises these results.

TABLE III

Grading of lettuce for quality and size, comparing plants treated with griseofulvin with untreated plants

Trial No.	Treatment	No. Cut	No. not fit to Market	No. with obvious Botrytis	No. Packed for the Market	No. of Lettuce Packed**		No. of Bushel boxes of both sizes Lettuce Marketed
						12 To a box	18 To a box	
6	Untreated	50	5	34	45	14	31	3
	Treated	50	0	5	50	46	4	4
7	Untreated	49*	7	—	42	19	23	3
	Treated	56*	0	—	56	48	8	4½

**From the some area treated and untreated.*

***Lettuce are packed by size in standard size containers, in this case bushel boxes. The smaller the lettuce the more will go into a box.*

Illustrations 5 and 6 show the crop cut and packed from comparable areas of treated lettuces at trial 7.

Plate V. — The crop from the treated area. See Table III.

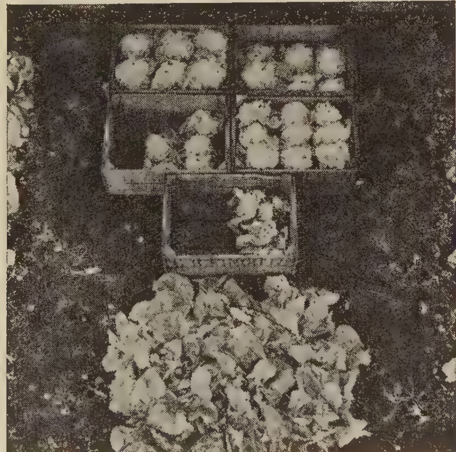


Plate VI. — The Crop from the same size untreated area as Plate V. See Table III.

Eight trials involving a comparison of thiram and griseofulvin were arranged, but owing to the relatively low incidence of Botrytis this spring, only three have shown any result. Of these, one was a straight comparison of thiram with untreated in which there was 28% loss on the untreated plot and 27% on the thiram plot. The other two had little Botrytis, in one thiram gave the better results, in the other griseofulvin. Thiram dust is not extensively used in England as growers do not like its skin irritant properties, and because it has shown a retarding effect on lettuces under certain circumstances.

In order to assess the value of the results, the eleven positive results were submitted for statistical analysis. Each has been assessed individually, and of the eight which were able to be analysed, four show statistically significant reduction of losses. The other four showed variations between plots of the same treatment too great to be able to express anything other than a tendency. In all cases, however, including the three which could not be analysed, there is sufficient evidence to say that the losses have been satisfactorily reduced.

The one negative result involved a late treatment on an otherwise untreated crop. Botrytis was already present at the time of treatment, and there was apparently no check to the development of the fungus. A. H. Campbell in a paper read at this symposium in 1956 stressed that griseofulvin is a fungistat and not a fungicide. This negative result was therefore to be expected.

There was evidence in seven sites that griseofulvin treated plants matured a little earlier than the untreated plants. The same effect was observed in two cases in the thiram comparison where the griseofulvin treated plants matured earlier than those treated with thiram.

SUMMARY

It has been shown that griseofulvin reduces the losses of plants before harvesting and in some cases has improved the quality of the lettuce and reduced the amount of Botrytis on the undersides of the plants.

Ir. W. H. M. Dalmeyer, Groningen

V : How many times were the lettuce treated wlth griseofulvin?

A : This is given in the table.

V : Costprice Griseofulva?

A : We have nothing to add to what is said in the printed script.

Ir L. P. Flipse, Rotterdam

V : Welke mening heeft men in England over toepassing van antibiotica op consumptiegewassen.

A : There is no restriction upon the use of Griseofulvin as an experimental material but the Ministry of Agriculture has recently been approached through their Notification and Clearance Scheme with regard to its sale on the open market. We cannot therefore anticipate their decision on Griseofulvin. Streptomycin is the only other antibiotic for immediate use, but this cannot be sold for horticultural or agricultural applications in Great Britain and Nothern Ireland as it is forbidden under certain* Acts of Parliament in force at the present.

*Therapeutic Substances (Prevention of Misuse) Act.

ERVARINGEN MET 2-CHLOOR-4, 6-BIS-(ETHYLAMINO)-S-TRIAZINE ALS HERBICIDE

door

J. Stryckers

Het 2-chloor-4, 6-bis-(ethylamino)-s-triazine, simazin (Fig. 1), is een potentieel zeer aktief plantengift dat met zijn grote werkingsbreedte veel gelijkenis biedt met het ureumderivaat CMU of monuron.

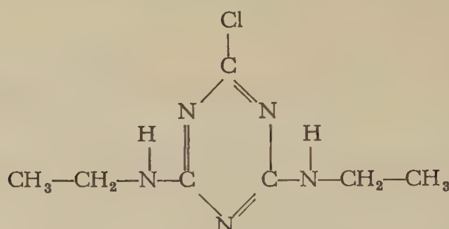


Fig. 1. — Struktuurformule van simazin
Structur formula of simazin

Weinig akkerbouwgewassen zijn bestand tegen simazin terwijl ook éénjarige onkruiden reeds voor geringe hoeveelheden als 1-2 kg/ha gevoelig zijn (1, 2, 3, 4, 5), (Tabel 1). Slechts maïs is in hoge mate fysiologisch resistent; in tegenstelling met CMU of zelfs DCMU en neburon zijn zeer hoge doses simazin voor maïs toelaatbaar. (Figuur 2) (*)

De reaktie verloopt vrij traag en de doding na een pre-emergence aanwending kan bij kiemlingen van éénjarige planten 3-4 of meer weken in beslag nemen. Doorlevende grassen, z.a. *Agropyron repens P. B.*, worden na ongeveer een maand chlorotisch en sterven daarna traag af, zodat deze planten, zelfs tijdens de zomer, slechts na minimum twee maanden bovengronds kunnen verdwijnen. Andere doorlevende, rhizomenvormende onkruiden, z. a. *Stachys palustris L.*, kunnen bij toediening voor de opkomst vanaf 5 kg/ha praktisch totaal in hun verdere groei geremd worden. (Fig. 2)

(*) Onderzoekingen uitgevoerd onder de auspiciën van het IWONL, Instituut tot Aanmoediging van het Wetenschappelijk Onderzoek in Nijverheid en Landbouw.

Fig. 2. — Totale onkruiddoding in maïs, 2 maanden na pre-emergence toepassing van 5 kg/ha simazin.
Total weed control in maize, 2 month after pre-emergence application of 5 kg/ha simazin.

TABEL 1

Onkruiddoding door pre-emergence toepassing van simazin
Weed control after pre-emergence treatment with simazin
(Behandeling op 29 mei 1956, 3 dagen na zaaien van maïs)
(*Application on* 29. *may* 1956, 3 *days after sowing of maize*)

Onkruidsoorten *Weed species*	Blanko *Check*	5 kg/ha	10 kg/ha	15 kg/ha
Polygonum persicaria L.+P. nodosum Pers.	786*	0	0	0
Matricaria chamomilla L.	216*	0	0	0
Chenopodium album L.	5*	0	0	0
Stellaria media (L.) Vill.	6*	0	0	0
Agropyron repens P.B.	100**	14,0	7,6	2,1

(*) Gemiddeld aantal planten per m² op 27 juni 1956.
Average number of plants per m² on 27. *june* 1956.
(**) Relatief gewicht rhizomen op 26 september 1956.
Relative weight of rhizomes on 26. *september* 1956.
(100 = 117,5 g/0,3 m³; 0,3 m³ = 1 m² × 0,3 m)

Doses van 10-15 kg/ha oefenen daarentegen slechts een zeer geringe invloed uit op maïs, zowel wat betreft de lengtegroei als de produktie (Tabel 2).

TABEL 2

Invloed van simazin op silomaïs (U.S. 13)
Influence of simazin on maize for silage (U.S. 13)

Behandeling *Treatment* 29/05/1956	Relatieve lengte *Relative length* 26/09/1956	Relatieve produktie *Relative production* 26/09/1956
5 kg/ha	95,1	110,6
10 kg/ha	95,7	106,2
15 kg/ha	88,2	95,6
Gemiddelde blanko's (4) *Average check plots*	100,0* ±2,9	100,0** ±11,5

(*) 100 = 1,5 m; (**) 100 = 39.275 kg/ha.

Niettegenstaande simazin praktisch onoplosbaar is in water, nl. 3,5 dpm, en men van dit middel nog minder randwerking mag verwachten dan van CMU, waarvan de oplosbaarheid 230 dpm bedraagt, trad er in de beschreven proef een traag voortschrijdend afsterven op van de boordonkruiden op de blankopercelen. Dit is in tegenstelling met alles wat er tot op heden dienaangaande is vastgesteld en ook in tegenstelling met de andere hier verder besproken onderzoekingen (Fig. 3, 4 en 5). De kontroles droegen

Fig. 3. — v.l.n.r.: Langzaam voortschrijdend afsterven van de boordonkruiden.
Slowly extending lateral action of simazin on a check plot.

Fig. 4. — Resterende onkruiden op blanko percelen 2 maanden na simazin toepassing op de omringende percelen.
Rest of weeds on a check plot 2 month after simazin application on the surrounding plots.

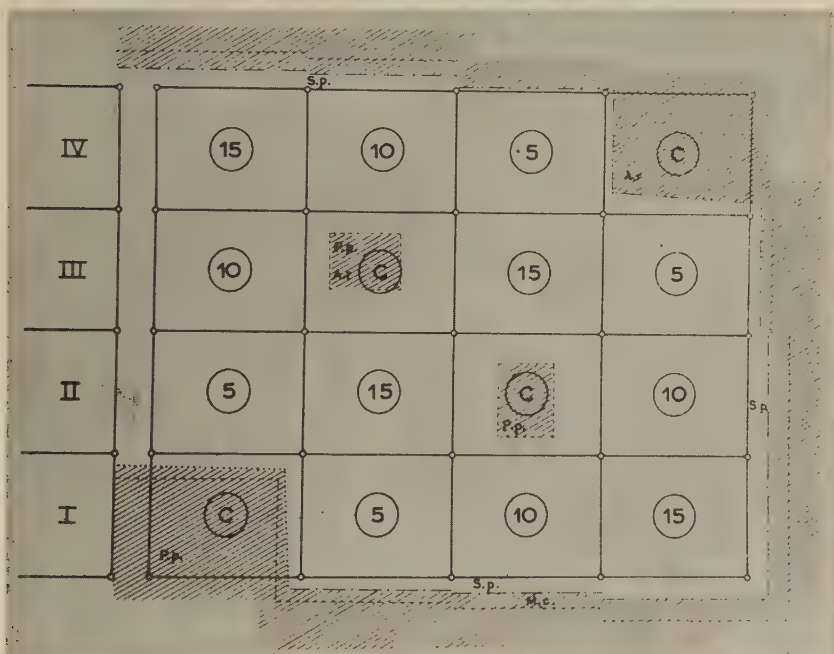


Fig. 5. — Onkruidbezetting op de blankopercelen na de maïsoogst ingevolge afsterven van de randonkruiden.
Weed occupation in the check plots after maize was yielded.

in dit geval een zeer dichte bezetting van gevoelige éénjarige onkruiden, die vrij sterk wortelen, nl. gemiddeld 1.013 planten per m^2 w.o. 786 *Polygonum* soorten, welke bij de oogst van de maïs 13.000 kg/ha groene massa leverden. In verband met de weersomstandigheden dient vermeld dat tot enkele tijd na de opkomst van de maïs we een droge, schrale periode kenden, gevolgd door overvloedige neerslag tijdens de rest van de zomer. Als zeer voorname habitatsfaktor kunnen we verder nog aanstippen dat de grond op dit proefveld een zeer gering adsorptief vermogen bezit, met een humusgehalte van slechts 1,03%; het is een zandleemgrond met als deeltjesgrootte van 0-2 μ : 8,5%, van 2-10 μ : 4,0%, van 10-20 μ : 8,6%. Ten slotte is vastgesteld dat slechts een uiterst geringe hoeveelheid simazin in de plant aan te tonen is : bij talrijke onderzochte teeltplanten is er 2-4 maanden na aanwending van 2-10 kg/ha minder dan 0,1 dpm terug gevonden (3).

Bij een nieuw proefopzet in 1957 onder analoge bodemvoorwaarden doch met als onkruid *Chenopodium album L.* (ca. 200 planten per m^2) bleef deze zijdelingse werking volledig uit.

Evenals CMU bezit ook simazin een zeer lange nawerking. Na de maïs volgde wintertarwe (Leda; zaaidatum : 11 november 1956). Het gewas ontwikkelde tot begin april normaal; op dat ogenblik trad na de eerste warmere dagen reaktie op. Uit tellingen uitgevoerd op 4 mei 1957 blijkt dat voor 10 kg/ha toegediend op 29 mei 1956, dus bijna 1 jaar voordien, er 24% van de tarweplanten afgestorven waren; voor 15 kg/ha was dit gemiddeld zelfs reeds 66%; later op het seizoen was de doding van de tarwe praktisch totaal voor deze doses. De praktijk dient derhalve ernstig rekening te houden met deze residuale werking, mede met het akkumulatiegevaar bij het herhaald aanwenden van simazin. *Matricarcia chamomilla L.* en *Ranunculus sardous Crantz* reageren aanvankelijk opvallend minder dan het graan : zelfs op percelen met hoogste dosis simazin kwam er een dichtere bezetting voor dan op de kontrole percelen, nl. 119% kamille resp. 127% behaarde boterbloem t.o.v. de blanko's op 24 april 1957; later stierven echter deze planten eveneens voor een hoog percentage.

Daar simazin praktisch onoplosbaar is in water blijft de werkzame stof volgens Gysin en Knüsli (5) in de bovenste 5 tot 10 cm van de bodem aanwezig en is uitlogen in de diepere lagen verhinderd. Dit feit zette ons aan om simazin in een 2-jarige populierenkwekerij onder *Populus euramericana (Dode) Guinier cv. robusta* en *P. serotina erecta* toe te passen, hetgeen we zonder gevaar tot 10 kg/ha beproefden door behandelingen tijdens het begin van de zomer (13 juni 1956). Alhoewel er een vervroegde bladval bij de onderste takken optrad tijdens het jaar van toepassing was het aanslaan en het uitlopen bij de inmiddels uitgeplante bomen absoluut normaal. Van de aangewende doses volstonden 5 kg/ha

om éénjarige grassen, z. a. *Poa annua L.*, te doden, terwijl voor 10 kg/ha doorlevende grassen, z.a. *Agrostis stolonifera L.*, verdwenen.

Ook in grienden konden we doorlevende grassen, z.a. *Agropyron repens P. B.* en *Holcus lanatus L.*, bestrijden maar ook nog doorlevende dicotyle onkruiden z.a. *Ranunculus repens L.* en *Glechoma hederacea L.* Na aanwending van 2½; 5 resp. 10 kg/ha simazin eind januari (31e) bleven er eind april (25e) slechts 34; 14 resp. 6% kruipende boterbloemen over t.o.v. de kontroles, waar er gemiddeld 118 planten per m^2 voorkwamen.

Zonder schade aan de teelt konden we aldus simazin enkele weken na de kap en zelfs later bij het uitlopen aanwenden in grienden met drie- en met vijfjarige *Salix americana hort.*

Volgens dezelfde onderzoekers G y s i n & K n ü s l i (4,5) wordt weinig simazin door het blad en bijna alles door het wortelsysteem opgenomen. Hierop steunend konden we bij 5-jarige *Salix viminalis L.* van 60-70 cm lengte (13 juni 1956) zonder schade 5 kg/ha simazin over het blad spuiten (1.000 l/ha water); door 10 kg/ha werd evenwel de lengteontwikkeling en de elasticiteit nadelig beïnvloed. *Salix americana hort* wordt echter wel beschadigd door 5 kg/ha bij een lengte groter dan 20-25 cm.

Fig. 6. — Dode meerjarige grassen doch niet getroffen Rumex obtusifolius L. en Rubus fruticosus L. na toepassing van 10 kg/ha simazin op 28 september 1956 (Foto : 2 mei 1957).
Dead perennial grasses but resistant Rumex obtusifolius L. and Rubus fruticosus L. after treatment with 10 kg/ha simazin on 28. Sept. 1956 (Photo: 2. may 1957).

Als totaal herbicide ingezet in het begin van de zomer (13 juni 1956) over een dichte vegetatie van reeds flink ontwikkelde doorlevende planten, w.o. *Agropyron repens P. B.* en *Convolvulus arvensis L.*, bleef simazin, toegepast tot 10 kg/ha, evenwel in gebreke.

Eindejaars behandelingen (28 november 1956) met 10-20 kg/ha leverden daarentegen in het daarop volgende voorjaar een zeer goede doding van doorlevende grassen, w.o. vnl. *Agrostis spp.*, *Lolium perenne L.* en *Poa spp.* (Fig. 6) Andere dieper wortelende, doorlevende onkruiden overleven echter dergelijke behandeling. Dit is o.m. het geval voor *Equisetum spp.*, *Juncus spp.*, *Rumex obtusifolius L.* (Fig. 6), *Cirsium arvense Scop.*, *Tussilago farfara L.*, *Taraxacum officinale Web.*, *Artemisia vulgaris L.*, *Tanacetum vulgare L.*, *Rubus fruticosus L.* (Fig. 6) en *Medicago sativa L.*. Hetzelfde geldt ook voor behandelingen vlak vóór het hernemen van de groei (13 maart). *Cirsium arvense Scop.* werd zelfs met 40 kg/ha maar zeer traag geremd en bovengronds gedood.

Als totaal herbicide lijkt ons menging met dieper werkende middelen beproevenswaard. Bij mengingen van 5; 10; 15 kg/ha simazin met 15; 10 resp. 5 kg/ha amizol stellen we vast dat de verhoudingen met de geringste hoeveelheid simazin en de hoogste dosis amino triazol het geschiktst zijn.

Uit deze mededeling moge blijken dat we hier voor een nieuw middel staan dat zeer veel beloften inhoudt. Vooral bij het onderzoek naar de mogelijkheden inzake toepassing van simazin in de fruitteelt o.m. onder fruitbomen en ook onder andere bomen en struikgewas worden er hoge verwachtingen gesteld.

SAMENVATTING

Maïs bezit een hoge fysiologische resistentie tegen simazin. Ter verdelging van éénjarige onkruiden zijn anderzijds bij preemergence toepassing slechts kleine hoeveelheden vereist.

In 2-jarige populierenkwekerij kon tot 10 kg/ha o.m. tegen grassen dienstig zijn. In wijmen mag na de kap tot 5 kg/ha gespoten worden; naast grassen kunnen in grienden ook dicotyle onkruiden, z.a. *Ranunculus repens L.*, bestreden worden. Tegen andere doorlevende diepwortelende planten bleef simazin als totaal herbicide echter in gebreke.

RESUME

Expériences avec l'herbicide 2-chlore-4,6-bis-(éthylamino)-s-triazine, simazin

1. Le maïs possède une grande résistance physiologique contre le simazin. En applicant en pré-émergence 5; 10; 15 kg/ha de simazin, même la plus forte dose n'avait qu'une faible influence sur la croissance et le rendement du maïs à ensiler (var. U.S. 13).

D'autre part une quantité inférieure à 5 kg/ha suffit à détruire des plantes annuelles telles que *Polygonum persicaria L.*, *P. nodosum Pers.*, *Matricaria chamomilla L.*, *Stellaria media Vill.* et *Chenopodium album L.* Les plantes vivaces à rhizomes, p. ex. *Agropyron repens P. B.*, meurent plus lentement tandis que le développement des pousses de *Stachys palustris L.* est remarquablement freiné.

En dépit de l'insolubilité dans l'eau (3,5 p.p.m.) nous avons obtenu une lente action latérale visible à plus d'un mètre dans les parcelles-contrôles adjaçantes. Ce fait est contraire à ce qu'on a constaté jusqu'à présent. Les parcelles-contrôles portaient une population dense de plantes annuelles susceptibles et bien enracinées, notamment environ 1.000 plantes par m^2, parmi lesquelles en moyenne 786 *Polygonum spp.* Le sol a un faible pouvoir adsorptif (particules de 0-2 μ = 8,5%; teneur en humus = 1,03%).

2. Sous des plantes de pépinière assez profondément enracinées, tel que peuplier de 2 ans, il fût possible d'appliquer avec succès 5 kg/ha de simazin contre des graminées annuelles, e.a. *Poa annua L.*, et jusqu'à 10 kg/ha de simazin contre des graminées vivaces, p. ex. *Agrostis stolonifera L.*.

3. Sur des osiers (*Salix viminalis*) de 5 ans en feuilles et ayant 60 à 70 cm de hauteur on pulvérisera 5 kg/ha de simazin. *Holcus lanatus L.* et des dicotyles vivaces p.e. *Ranunculus repens L.* et *Glechoma hederacea L.* furent détruites.

Avec 10 kg/ha de simazin l'élasticité des osiers fut endommagée et la croissance fortement freinée.

Il n'y avait pas d'action latérale dans l'oseraie ni sous les peupliers (particules de sol de 0-2 μ : 11,6 %; teneur en humus : 1,58%).

4. Sur une végétation très dense de plantes vivaces le simazin (10 kg/ha) a failli comme herbicide total contre des plantes vivaces et fortement enracinées.

SUMMARY

Experiences with the herbicide 2-chloro-4,6-bis-(ethylamino)-s-triazine, simazin

1. Maize possesses a high physiological resistance against simazin. After a pre-emergence application of 5; 10; 15 kg/ha even the highest dose has only a slight influence on the length growth and the greenfodder production of silomaize (U.S. 13). On the other hand less than 5 kg/ha is sufficient to control annual weeds, such as *Polygonum persicaria L., P. nodosum Pers., Matricaria chamomilla L., Stellaria media Vill.* and *Chenopodium album L.* Rhizomes forming perennial weeds, e.g. *Agropyron repens P. B.*, are killed much more slowly, whilst sprouting of *Stachys palustris L.* is inhibited. In spite of the waterinsolubility (3,5 p.p.m.) we obtained a slowly extending lateral action till more as 1 m, in contrast with all observations hitherto. The control plots had a very dense population of well rooted, susceptible annual weeds (about 1.000 plants per m^2, among which in average 786 *Polygonum spp.*), on a soil with a very low adsorption capacity (soil parts of 0-2 μ : 8,5 %; humuscontent : 1,03%).
2. Under deeper rooted nursery trees such as poplar (2 years) it is possible to apply simazin at the end of the spring, without causing damage to the poplars at 5 kg/ha with very good results against annual grasses, e.g. *Poa annua L.* and at 10 kg/ha against perennial grasses, e.g. *Agrostis stolonifera L.*.
3. On willow (5 years Salix viminalis) of 60-70 cm high we could spray 5 kg/ha simazin on the leaves. *Holcus lanatus L.* and perennial dicotyledonous weeds, e.g. *Ranunculus repens L.* and *Glechoma hederacea L.*, were killed.

Using 10 kg/ha the growth and the elasticity of the willow suffered.

There was no sign of lateral action neither under the poplars nor in the willow culture (soil parts of 0-2 μ : 11,6%; humuscontent : 1,58%).

4. On a very dense vegetation simazin (10 kg/ha) could not be used as a total herbicide against deep rooted perennial plants.

ZUSAMMENFASSUNG

Erfahrungen mit dem Herbizid 2-chlor-4,6-bis-(äthylamino)-s-triazin, Simazin

1. Mais besitzt eine grosse physiologische Resistenz gegen Simazin Nach einer „pre-emergence" Behandlung mit 5; 10; 15 kg/ha hatte selbst die höchste Dosis nur einen sehr geringen Einfluss auf Wachstum und Grünfutterproduktion des Silomais U.S. 13.

Zur Bekämpfung einjährigen Unkräuter so wie *Polygonum persicaria L.*, *P. nodosum Pers.*, *Matricaria chamomilla L.*, *Stellaria media Vill.* und *Chenopodium album L.* ist im Gegenteil weniger als 5 kg/ha schon genügend. Ausdauernde Rhizomeformende Unkräuter, so wie *Agropyron repens P. B.*, sterben viel langsamer ab, während Sprossformung bei *Stachys palustris L.* sehr stark gehemmt wird.

Simazin ist praktisch unlöslich in Wasser (0,0035‰); trotzdem konnten wir eine langsame laterale Wirkung bis mehr als 1 m nachweisen. Die unbehandelten Parzellen waren sehr dicht besetzt mit stark wurzelnden, empfindlichen einjährigen Unkräuter (ungefähr 1.000 Pflanzen pro m^2, worunter im Mittel 786 *Polygonym spp.*). Der Boden hatte eine sehr geringe Adsorptionskapazität (Erdteilchen 0-2 μ : 8,5 %; Humusgehalt : 1,03%).

2. Unter tiefer wurzelnden Baumschule Pflanzen so wie Pappel (2-jährig) konnten wir am Ende des Frühlings mit ausgezeichnetem Resultat 5 kg/ha Simazin anwenden gegen einjährige Gräser, zB. *Poa annua L.*, und bis 10 kg/ha gegen ausdauernde Gräser, zB. *Agrostis stolonifera L.*

3. Korbweiden (5-jährige *Salix viminalis*) von 60-70 cm höhe ertrugen 5 kg/ha Simazin während *Holcus lanatus L.* und ausdauernde zweikeimblättrige Unkräuter so wie *Ranunculus repens L.* und *Glechoma hederacea L.* vernichtet wurden. Durch 10 kg/ha wird aber der Wachstum und die Elastizität der Weiden geschadet.

Weder unter den Pappeln noch in der Korbweidenkultur fand eine laterale Wirkung statt (Erdteilchen 0-2 μ : 11,6%; Humusgehalt : 1,58%).

4. Angewendet über eine dichte Vegetation war Simazin (10 kg/ha) nicht nützlich als Total Herbizid gegen stark wurzelnde ausdauernde Pflanzen.

LITERATUUR

1. GAST, A., KNÜSLI, E. und GYSIN, H. — Chlorozin, eine phytotoxisch wirksame Substanz. *Experientia*, 1955, **11**, 107-111.

2. GAST, A., KNÜSLI, E. und GYSIN, H. — Ueber weitere phytotoxische Triazine. *Experientia*, 1956, **12**, 146-152.

3. GEIGY, J. R. (A. G.). — Simazin. *Information aus der Abteilung für Schadlingsbekämpfung, A. G. Geigy*, Basel, 1957, pp. 29.

4. GYSIN, H. and KNÜSLI, E. — Chemistry and herbicidal properties of triazine derivatives. *Research lab. J. R. Geigy* S. A., *Res. Report* nr D5, 1956, pp. 13.

5. GYSIN, H. and KNÜSLI, E. — Introductory remarks on the chemistry and herbicidal properties of triazine derivatives. *3rd British Weed Control Conference*, 1956.

6. NEILSON, J. S. — Corn and soybeans. *Res. Rep. East Sect. Nat. Weed Comm.*, 1956, 8-14.

Veenhof, M. J. (Deventer, Nederland)

V : Is het reeds bekend waarop de fysiologische resistentie van maïs tegen simazin berust en zijn er meerdere resistente gewassen bekend?

A : Zoals dit helaas nog voor vele nieuwe herbiciden het geval is, is ook nog zeer weinig bekend betreffende de werking van simazin en derhalve ook betreffende de fysiologische resistentie van maïs. Wel blijkt dit middel de koolzuur assimilatie en de daarmee verband houdende opbouw van assimilaten te storen.

Andere teelten (één- of tweejarige) waarin simazin als selektief herbicide zou kunnen aangewend worden zijn o.m. suikerriet (5 kg/ha), katoen (0,5 — 1 kg/ha), ananas (5 kg/ha). Teelten welke zonder gevaar kunnen volgen na maïs, waarin 1-2 kg/ha simazin werd toegediend, zijn o.m. : aardappelen, erwten, tabak, spinazie, peen, uien en hennep. Bij aanwending van hogere doses (bv. 5 kg/ha) volgt hetzelfde jaar best enkel opnieuw maïs dus bv. twee maal silo-maïs en het daaropvolgende jaar bij voorkeur aardappelen.

Aelbers, E. (Boxtel, Nederland)

V : Kunt U me nadere gegevens verstrekken over de proeven met simazin op *Salix americana*?

A : In Salix americana werd een tijdenproef aangevat met drie doses simazin nl. 2½; 5 resp. 10 kg/ha. Een eerste reeks percelen werd behandeld na de kap over de stoven; de wijmen van de tweede reeks percelen droegen ontluikende knoppen de toepassing terwijl bij de der de reeks de wijmen reeds tenen van 20-25 cm ontwikkeld hadden.

Niettegenstaande *Salix americana*, amerikaanse of duitse rode, veel oppervlakkiger wortelt dan bv. *S. viminalis*, katwilg of zgn. widauw, weerstaan ook deze wijmen aan doses tot 5 kg/ha. Anderzijds wordt er bij toepassing over jonge blaadjes en ontluikende knoppen geen schade hieraan veroorzaakt, in tegenstelling met andere middelen z.a. TCA, waarvan het gebruik beperkt blijft tot vóór het zwellen van de knoppen op de stoven.

Clerens, A. (Leuven, België)

V : Geeft simazin enig resultaat tegen *Tussilago farfara*?
Wat zou de behandeling kosten per hektare?

A : Simazin blijft helaas in gebreke tegen dit doorlevend onkruid dat sterk ontwikkelde rhizomen vormt. Na een aanvankelijk vergelen van de bladeren herneemt de plant

later krachtiger dan ooit. 2, 4, 5-TP aan minimum 2 kg/ha is vrijwel het enige middel om klein hoefblad met enig sukses te bestrijden : bij najaarstoepassingen slaagden we er in bloei- en bladvorming in het volgend voorjaar te beletten.

De kosten voor simazin zullen ongeveer overeenkomen met deze van CMU of monuron.

Detroux, L. (Gembloux, Belgique)

V : Quelle est la teneur en matière active du produit utilisé lors des essais? Des doses plus faibles ne pourraient-elles pas être suffisantes dans des champs envahis seulement par des mauvaises herbes annuelles (1 à 2 kg par exemple)?

A : Le produit utilisé était de 50% W. P. Les doses mentionnées sont néanmoins des quantités de matière active : p. ex. 5 kg/ha = 10 kg/ha 50% W. P.

En effet 1 à 2 kg/ha, appliqué en pré-émergence, est suffisant pour détruire un grand nombre d'espèces de plantes adventices annuelles.

De Lesseux, J. (Paris, France)

V : Quelles sont les dicotylédonés détruites par simazin dans vos essais?

A : Les dicotylédonés annuelles détruites par simazin sont des espèces de *Polygonum* e.a. *P. persicaria L.* et *P. nodosum, Matricaria chamomilla, Chenopodium album L.* et *Stellaria media.* Les dicotylédonés vivaces *Ranunculus repens* et *Glechoma hederacea* sont susceptibles pour 5 à 10 kg/ha de simazin.

Susceptibles pour 1-2 kg/ha sont entre autres aussi des jeunes plantes d'*Atriplex patula L., Papaver rhoeas L., Fumaria officinalis L., Capsella bursa-pastoris Moe., Sinapis alba L., Oxalis stricta L., Euphorbia spp., Mercurialis annua L., Viola tricolor L., Anagallis arvensis L., Galeopsis tetrahit L., Lamium amplexicaule L., L. purpureum L., Solanum nigrum L. et Mill. Veronica spp., Galium aparine L.* et *Senecio vulgaris L.*

ENKELE PROEVEN MET CIPC ALS SELECTIEF ONKRUIDBESTRIJDINGSMIDDEL ALSMEDE ENIGE BESCHOUWINGEN OVER CIPC IN VERGELIJKING MET IPC(PROPHAM)

door

F. H. Feekes en J. Reitsma

Laboratorium van N.V. Fabriek van Chemische Producten,
Vondelingenplaat, Nederland

Inleiding

Nadat door ons gedurende een viertal jaren proeven waren genomen met isopropyl-N-phenylcarbamaat (IPC, propham) als selectief onkruidbestrijdingsmiddel (12) kwamen, zoals gewoonlijk bij toepassing hiervan in de praktijk, de voordelen en beperkingen van dit product nader aan het licht. Waar inmiddels het meta-chloorderivaat (o-isopropyl-N-(3 chloorphenyl) carbamaat) (CIPC) bleek deels overeenkomstige doch deels ook sterk afwijkende eigenschappen te bezitten, werden gedurende de jaren 1953-1956 de proeven met dit nieuwe product voortgezet. Teneinde na te gaan in hoeverre de twee producten bij toepassing als selectieve onkruidbestrijders overeenkomen, resp. verschillen, om in verband hiermede specifieke toepassingsgebieden te kunnen opsporen, wordt hieronder een overzicht gegeven van het belangrijkste wat hierover uit de literatuur bekend is. Voor de eigenschappen van IPC zie onze bovengenoemde publicatie (12).

Literatuurbeschouwing

Nadat in 1945 (35) IPC werd ontdekt als grasdodend middel, werd spoedig gevonden dat een aantal verbindingen uit de groep der carbamaten herbicide eigenschappen vertoont (36). De herbicide werkzaamheid en de selectiviteit ten opzichte van verschillende planten bleek sterk afhankelijk te zijn van de chemische structuur dezer verbindingen (33). Sommige derivaten waren toxisch voor grassen, andere voor tweezaadlobbige planten, weer andere voor beide. Verschillende onderzoekers (11, 27, 40) noemen van deze derivaten het metachloorderivaat (CIPC) het meest belovende voor de bestrijding van grassen in diverse gewassen.

In hoeverre dit juist moet worden geacht zal nog nader worden besproken.

De eerste resultaten met IPC waren soms tamelijk tegenstrijdig. Om een enkel voorbeeld hiervan te noemen : sommige auteurs (5, 14) vermelden een goede bestrijding van kweekgras (Agropyron repens); in de proeven van anderen (7) bleek het resultaat teleurstellend. Deze tegenstrijdige resultaten hebben geleid tot een intensieve bestudering van het toxiciteitsprincipe, de herbicide eigenschappen en de invloed van uitwendige factoren op de isopropyl phenyl carbamaten. Voor een literatuuroverzicht over de physiologische werkzaamheid der carbamaten zij verwezen naar 2, 6, 19 en 22. Overzichten over de ontwikkeling der carbamaten als onkruidbestrijders vindt men bij 15 en 29.

Hieronder volgt een overzicht van de voornaamste eigenschappen der carbamaten en der factoren, welke van belang zijn om een inzicht te verkrijgen in de toepassingsmogelijkheden van IPC en CIPC in verschillende gewassen :

1. toxiciteitsprincipe en physiologische werking;
2. onkruiddodende werking;
3. factoren welke van invloed zijn op de onkruiddodende werking:
    a. bodemtemperatuur en vluchtigheid;
    b. grondsoort;
    c. bodemorganismen;
    d. indringen in de bodem;
    e. uitspoelen;
    f. werkingsduur in de bodem;
4. selectiviteit.

1. Toxiciteitsprincipe en physiologische werking

De phenylcarbamaten remmen de celdeling; ze werken wat dit betreft dus juist tegengesteld als bijv. 2,4-D dat de celdeling bevordert (8, 9, 11, 18). Vooral de wortelmeristemen zijn hiervoor gevoelig. Amerikaanse onderzoekers (1*a*) toonden met behulp van radioactief IPC aan, dat deze stof door onverwonde bladeren van maïs en haver praktisch niet, door onverwonde wortels echter gemakkelijk wordt opgenomen. Na verwonding is de opname, vooral door de bladeren, veel groter; zij raden op grond hiervan aan IPC als grasdoder toe te passen direkt na het maaien. De praktische ervaring heeft verder geleerd dat de knopmeristemen door rechtstreeks contact bij bespuiting niet of nauwelijks worden beïnvloed. Daar bovendien IPC en CIPC in het algemeen geen of zeer weinig contact-herbicide werkzaamheid vertonen opent dit in vele gevallen de mogelijkheid deze stoffen over het gewas te spuiten. Toch bestaat de kans dat sommige gewassen voldoende stof door de

bladeren opnemen om hierdoor te worden beschadigd. Zo vonden wij dat spinazie niet na opkomst met CIPC moet worden gespoten, althans niet wanneer deze in het kiembladstadium verkeert of enkele echte blaadjes heeft. Bespuiting over het volle gewas schijnt geen schade te veroorzaken. Anderen (24) vonden dat wortelen in het kiembladstadium niet, doch met twee echte blaadjes soms wel worden beschadigd. In onze eigen proeven gaf bespuiting in dit stadium echter geen enkele schade.

Worden de stoffen echter door de wortels opgenomen, dan kunnen ze naar de knopmeristemen worden getransporteerd en daar histologische veranderingen veroorzaken (9). De door de plant getransporteerde phenylcarbamaten kunnen hierin verder verschillende physiologische veranderingen teweeg brengen zoals :

vermeerdering van het chlorophyl, waardoor een diep groene kleur ontstaat (16);

vermeerdering van de hoeveelheid suikers in de bladeren (19).

Zeker is wel dat de phenylcarbamaten de physiologische processen in de plant ingrijpend kunnen wijzigen : de koolhydraatstofwisseling wordt sterk beinvloed (37), waarschijnlijk geblokkeerd (19), waardoor genoemde ophoping van suikers plaats vindt.

Hoewel geen enkele der onderzochte planten volkomen resistent bleek tegen de phenylcarbamaten, bestaan er grote verschillen in gevoeligheid tussen de diverse plantensoorten. Vermoed wordt (26) dat de productie van anti-stoffen door de plant de toxische werking der phenylcarbamaten bepaalt. Voor deze selectiviteit zie verder onder 4.

2. Onkruiddodende werking

Daar de wortelmeristemen het meest gevoelig zijn voor phenylcarbamaten moeten, teneinde een goede selectieve onkruidbestrijding te verkrijgen, de worteltoppen der onkruiden zovéél en die der gewassen zo weinig mogelijk door deze stoffen worden geremd. Dit kan op de volgende wijzen worden verkregen :

1. De gewassen wortelen zo diep dat ze niet worden geschaad terwijl de oppervlakkig wortelende onkruiden worden gedood. Hiervoor komen in aanmerking staande of uitgeplante gewassen waarvan de wortels zich op voldoende diepte bevinden. Het is hiervoor derhalve noodzakelijk meer te weten omtrent indringing in de bodem (3*d*) en uitspoelen (3*e*).
2. Bij gezaaide gewassen kan het beoogde effect theoretisch worden bereikt indien :
   a. de zaden vrij diep worden gelegd en snel een kiemwortel tot vrij grote diepte ontwikkelen;
   b. het gewas relatief ongevoelig is;

c. de zaden langzaam kiemen zodat het onkruidbestrijdingsmiddel voldoende is uitgewerkt of verdund voordat de zaden kiemen.

Teneinde te kunnen beoordelen welke van deze mogelijkheden in de praktijk te verwezenlijken zijn is het nodig meer te weten omtrent werkingsduur in de bodem (3*f*) wat weer nauw verband houdt met de werking van bodemorganismen (3*c*), indringen in de bodem (3*d*), uitspoelen (3*e*) en de selectiviteit t.o.v. verschillende plantensoorten (4). Verder is het in alle gevallen noodzakelijk meer te weten omtrent bodemtemperatuur en vluchtigheid (3*a*) en invloed der grondsoort (3*b*). De hierboven genoemde punten 3*a*-3*f* en 4 worden derhalve hieronder aan de hand der literatuur behandeld.

3. Uitwendige factoren welke van invloed zijn op de onkruiddodende werking

3*a*. *Bodemtemperatuur en vluchtigheid*

Zowel IPC als CIPC zijn vluchtig; de gassen hebben een herbicide werkzaamheid (29).

De bodemtemperatuur kan een belangrijke factor vormen bij het verdwijnen van deze carbamaten door verdamping (21, 32). Hierdoor kan bij hoge bodemtemperaturen (boven 32° C) de onkruiddodende werking te laag worden voor praktische toepassing (29, 13). Door de minder snelle verdamping bij lage temperaturen zal toepassing in perioden met zulke temperaturen de voorkeur verdienen (21). In praktijkadviezen wordt daarom wel aangegeven geen onkruidbestrijding toe te passen bij temperaturen boven 20° C zonder daarop volgende beregening.

Overigens speelt de werkzaamheid van bodemorganismen ook een belangrijke rol bij het onwerkzaam worden dezer stoffen (zie 3*c*).

3*b*. *Grondsoort*

De werkingsduur resp. onkruiddodende werking van IPC wordt bevorderd door een hoog percentage aan zand (21); verminderd door een hoog percentage aan organische stof (21) en aan kalk (15). In overeenstemming hiermede vonden andere onderzoekers dat de werkingsduur het langst was op zandgrond, middelmatig op zavel en leemgronden en het kortst op tuingrond (23); zij schrijven dit toe aan de hoeveelheid organische stof. Eveneens in overeenstemming hiermede vonden anderen (39) dat bestrijding van wilde haver (Avena fatua) met IPC en CIPC het gemakkelijkst slaagde naarmate de grond lichter was (op zavel en kleiachtige gronden). Met anderen (38) menen zij dat IPC en CIPC worden geadsorbeerd aan de kationen-uitwisselaars, welke in de zwaardere

gronden meer aanwezig zijn. Ook de watercapaciteit, welke bij de zwaardere gronden het grootst is, zou een rol kunnen spelen, daar in deze gronden eenzelfde hoeveelheid chemische stof meer zou worden verdund dan in lichte grond (39). Overigens zij opgemerkt dat volgens Nederlandse ervaringen bij toepassing van CIPC in $1\frac{1}{2}$ — 2 kg/ha onder gunstige uitwendige omstandigheden, geen waarneembare verschillen tussen toepassing op zand- en veengrond werden geconstateerd. Verder zij opgemerkt dat door andere onderzoekers (32) werd gevonden dat de werkingsduur van CIPC door kalk juist wordt bevorderd. De meningen omtrent de invloed van de grondsoort zijn dus nog enigszins verdeeld. Een algemene praktijkervaring schijnt echter wel te zijn dat op zwaardere kleiachtige gronden meer CIPC moet worden gebruikt dan op lichte zandige gronden om eenzelfde onkruiddodend effect te bereiken.

3*c*. *Bodemorganismen*

Door IPC te vermengen met gesteriliseerde en niet gesteriliseerde grond werd gevonden (15) dat in eerstgenoemde het IPC gedurende 9 weken aantoonbaar bleef, in laatstgenoemde 2 weken. Dit wijst duidelijk op bacteriële afbraak van IPC. Daar bacteriële processen zeer worden gestimuleerd door hoge temperatuur en vocht, kan de afbraak van IPC en CIPC onder deze omstandigheden sterk worden versneld.

Hoewel het directe bewijs door anderen (21) niet kon worden geleverd, heeft de praktijk toch algemeen aangetoond dat de phenylcarbamaten het langst werken in perioden van koel weer als de bacteriewerking gering is.

3*d*. *Indringen in de bodem*

Door proeven werd aangetoond (15) dat IPC in zandige leemgrond tot ongeveer 25 cm kan indringen.

Van CIPC werd daarentegen aangetoond, dat het slechts zeer weinig in de bodem indringt. Verschillende onderzoekers (25, 30) toonden aan dat CIPC in 7,5 lbs/acre, eveneens op zandige leem, beperkt bleef tot 5 cm diepte. Het CIPC bevond zich grotendeels in de bovenlaag van 2,5 cm en het meeste hiervan in de bovenste cm. Anderen (23) vonden dat CIPC van alle onderzochte middelen (2,4-D, NPA, TCA, CMU en CIPC) het minste indrong. Op zandgrond was het aanwezig in de bovenste 2,5 cm, op zavel en tuingrond alleen aan de oppervlakte.

Het verschil in indringend vermogen tussen IPC en CIPC kan wellicht grotendeels worden verklaard door de geringere oplosbaarheid van CIPC in water. Deze bedraagt voor IPC bij 25° C $\pm$ 250 d.p.m. en voor CIPC bij 20° C $\pm$ 80 d.p.m.

3e. *Uitspoelen*

De eigenschap van CIPC dat het zeer weinig in de bodem dringt is vanzelfsprekend van het grootste belang voor de toepassing ervan als herbicide. Eveneens van groot belang is echter in hoeverre CIPC naar diepere lagen uitspoelt na toediening van water. De gegevens hierover zijn enigszins tegenstrijdig. De doorlaatbaarheid van de bodem speelt hierbij wel een rol, doch uit proeven in perkolatoren is gebleken (3) dat zelfs bij hoge doses CIPC (16 liter/ha) en toediening van veel water (200 mm) de indringing nergens dieper was dan 6 cm. De sterkste concentratie van het CIPC bevond zich hier op 2-4 cm. diepte. Het gevaar dat voldoende diep wortelende gewassen na regen door uitspoelend CIPC zouden worden beschadigd moet dan ook gering worden geacht.

3f. *Werkingsduur in de bodem*

De hiervoor besproken factoren 3*a*-*e* zullen resulteren in een zekere werkingsduur van IPC en CIPC in de bodem. Omtrent deze werkingsduur zijn enkele gegevens uit kas- en veldproeven bekend :

Product	Dosis	Kasproef	Veldproef	Duur werkzaamheid	Auteur
IPC	2 lbs/acre	+		30 dagen	15
,,		+		16–24 ,,	27
,,	4 lbs/acre		+	35 ,,	34
,,	2–12 ,,		+	minstens 42 ,,	32
CIPC		+		48–54 ,,	27
,,	2 lbs/acre		+	minstens 56 ,,	32
,,	6 ,,		+	,, 75 ,,	28
,,	10 ,,		+	,, 90 ,,	17

Hoewel de gegevens niet volledig beschikbaar waren en ook wel niet geheel vergelijkbaar zullen zijn door verschillen in grondsoort enz. blijkt toch wel dat CIPC aanzienlijk langer werkzaam blijft dan IPC. Verder blijkt uit de gegevens van een der bovengenoemde onderzoekers (32) dat bij CIPC de concentratie van het toegediende product een veel belangrijker rol speelt dan bij IPC. Bij laatstgenoemd product waren hoeveelheden van 2,6 en 12 lbs/acre ongeveer even snel uitgewerkt; bij CIPC zag men duidelijk de langste werking bij de hoogste concentratie.

4. Selectiviteit

De selectiviteit t.o.v. verschillende planten is bij IPC aanzienlijk groter dan bij CIPC, terwijl de absolute werkzaamheid van laatstgenoemd product het grootst is. Proeven op een vijftal dicotyle- en een drietal monocotyle planten, zowel cultuurplanten

als onkruiden omvattend, leverden de volgende phytotoxiciteitsschaal (29) :

IPC varieert van 700 tot 1500
CIPC varieert van 1300 tot 1500

Voor de selectiviteit van IPC zij verwezen naar onze voorgaande publicatie (12). Herhaald zij slechts dat werd aangegeven (15) dat binnen de groep der Gramineën de Festucoïdeën meer gevoelig voor IPC en de Panicoïdeën meer gevoelig voor CIPC zouden zijn. O.a. in verband hiermede worden in de V.S. in de praktijk raaigrassen (Lolium spp.) in Leguminosen bestreden met IPC en bloedgierst (Digitaria sanguinalis) en andere grassen en Dicotylen welke resistent zijn tegen IPC met CIPC (nl. in katoen, sojabonen, alfalfa e.a. dicotyle gewassen).

De meeste zaadonkruiden , zowel grassen als dicotylen, worden, althans in het kiemstadium met CIPC goed bestreden. Een duidelijke uitzondering vormt kruiskruid (Senecio vulgaris) terwijl kamille (Matricaria), knopkruid (Galinsoga parviflora), melkdistel (Sonchus oleraceus) en moerasdroogbloem (Gnaphalium uliginosum) moeilijker te bestrijden schijnen te zijn dan de meeste andere zaadonkruiden. Muur (Stellaria media) is ook in een ouder stadium goed te bestrijden.

Omtrent de selectiviteit van cultuurgewassen t.o.v. CIPC is weinig bekend. Uit het voorgaande is echter wel gebleken dat de selectiviteit van CIPC niet groot is zodat voor praktische toepassing hiervan meer gezocht zal moeten worden naar de juiste toedieningswijze dan naar resistente gewassen. Gezien de opvallende resistentie van kruiskruid moet het vinden van werkelijk resistente cultuurgewassen niet geheel uitgesloten worden geacht.

Eigen Proeven

Naast onze eigen proeven worden ook enkele andere proeven en praktijktoepassingen kort vermeld.

Materiaal en methode

De proeven werden genomen met de volgende middelen, afkomstig van de N. V. Fabriek van Chemische Producten, Vondelingenplaat, Holland :

— gedurende de jaren 1950/3 met Triherbide-IPC, een spuitpoeder dat 50% werkzame stof bevat (12);
— gedurende de jaren 1953/6 met Triherbide-CIPC, waarbij het CIPC is opgelost in een emulgeerbare olie. Dit product bevat 40% actieve stof. In 1956 werden ook nog enkele proeven genomen met Triherbide-CIPC-droog, een spuitpoeder dat eveneens 40% werkzame stof bevat. Wanneer in het onderstaande wordt gesproken van Triherbide-CIPC wordt hiermede steeds het oliehoudende product bedoeld.

Bij waardering van onkruidbestrijding en stand van het gewas werden de cijfers 1-10 gebruikt. Tien betekent in het eerste geval totale doding van het onkruid en in het laatste geen enkele schade of achterstand van het gewas.

Alle bespuitingen werden uitgevoerd in 1000 liter spuitvloeistof per ha. Of event. in lagere hoeveelheden water zou kunnen worden gespoten of verneveld werd niet onderzocht. Verwacht mag echter wel worden dat de kans op schade bij behandeling over het gewas groter zal kunnen zijn, terwijl bij een droge bodem de herbicide werking minder zal kunnen zijn.

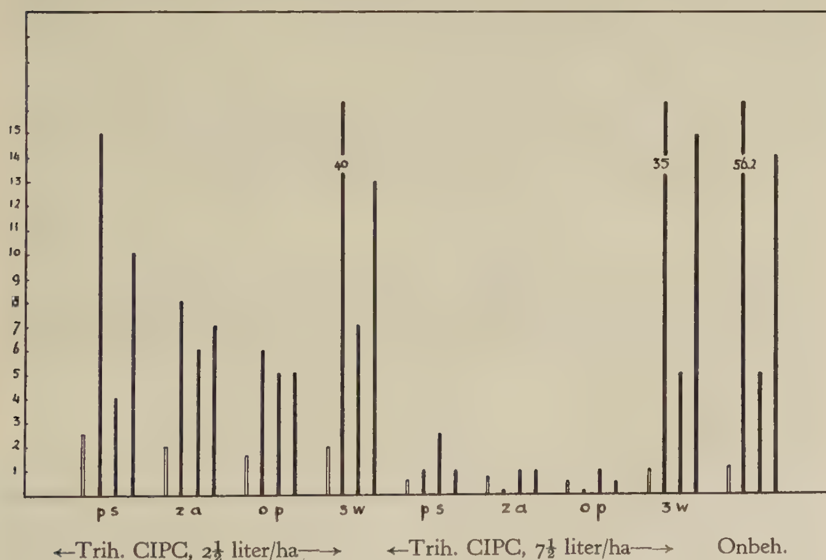
De gewichten (in grammen) en aantallen der onkruiden en gewassen worden opgegeven per M^2, tenzij anders is aangegeven.

Oriënterende pottenproef op Bieten

Teneinde enig inzicht te verkrijgen in de wijze waarop CIPC werkt en de dosering waarin het moet worden toegepast werd in 1953 een oriënterende pottenproef ingezet op suikerbieten,,Klein Wanzleben''.

Gezaaid werden 10 zaadkluwens per Mitscherlich-pot in een zand klei mengsel. Gespoten werd met 2,5 en 7,5 liter Triherbide-CIPC per ha (= resp. 1 en 3 kg CIPC/ha) op de volgende tijdstippen :

1) 4 dagen voor het zaaien (p.s.) op 27- 8
2) Op de dag van zaaien (za.) op 31- 8
3) Direkt na opkomen der bieten (op.) op 9- 9
4) 3 weken na opkomen der bieten (3w.) op 1-10



1e kolom : gemiddeld gewicht bieten per kluwen
2e kolom : totaal gewicht muur (Stellaria media) per pot
3e kolom : totaal gewicht andere Dicatylen per pot
4e kolom : totaal gewicht grassen per pot.

Bovenstaande grafiek geeft het resultaat der bespuitingen naast onbehandeld. Duidelijk blijkt de invloed van het tijdstip. Bespuiting No. 3 direkt na opkomst der bieten, toen ook de meeste onkruidzaden nog slechts kiemblaadjes hadden gaf de beste onkruidremming. Bespuiting No. 2 gaf iets minder, bespuiting No. 1 nog iets minder onkruidremming. Bespuiting No. 4 toen de onkruiden reeds meerdere echte blaadjes hadden leverde praktisch geen resultaat op (slechts muur werd gedrukt).

Conclusie : de beste onkruidbestrijding werd verkregen toen de onkruiden juist opkwamen en nog geen echte blaadjes hadden; in een vroeger stadium kan echter ook reeds een goede bestrijding verkregen worden.

Overblijvende gewassen

Het ligt voor de hand aan te nemen dat overblijvende gewassen bij uitstek geschikt zijn voor behandeling met IPC of CIPC mits aan de volgende voorwaarden wordt voldaan :

1) de gewassen moeten voldoende diep wortelen;
2) het moet mogelijk zijn de bodem overal te bespuiten;
3) het moet mogelijk zijn te spuiten als de onkruiden in het kiemstadium verkeren (indien men speciaal muur wil bestrijden is dit niet nodig);
4) de gewassen moeten niet extreem gevoelig zijn voor IPC of CIPC.

De praktijk heeft dan ook uitgewezen dat bespuiting met IPC of CIPC zeer goed mogelijk is in boomkwekerijgewassen, pioenen, klavers en lucerne. Voor de wijze van toepassing in boomkwekerijgewassen en pioenen (gecombineerd met DNC) zie 7*a* en 43. In Duitsland werden met succes proeven genomen in de bosbouw (4).

Ook aardbeien komen voor behandeling met CIPC in aanmerking. Het middel zal echter naast andere producten moeten worden gebruikt terwijl meerdere onkruidbehandelingen per jaar nodig zullen zijn. Een jaarschema wordt uitgewerkt (31).

Uitgeplante gewassen

Door ons werden proeven genomen in bloembollen (tulpen, hyacinthen) en groentegewassen (pootuien, sla, andijvie) doch ook andere gewassen komen in aanmerking.

Bloembollen

Uit de literatuur was ons bekend dat IPC verder in de bodem doordringt dan CIPC. Verder was ons uit voorgaande proeven bekend dat IPC in najaar of winter toegepast op tulpen geen schade veroorzaakt, terwijl dit bij voorjaarstoepassing wel het geval kan zijn. Een en ander maakt het waarschijnlijk dat CIPC voor toepassing in bloembollen beter op zijn plaats is dan IPC. Daar CIPC op zandige grond ook slechts oppervlakkig indringt was schade

aan de zich ontwikkelende wortels der bollen niet te verwachten (de proeven werden op zandgrond genomen). Wel werd ervoor gewaakt dat na de CIPC behandeling geen enkele grondbewerking werd toegepast om het middel niet naar diepere lagen te verplaatsen. Verder werd als voorzorg de dosering laag genomen nl. 4 liter Triherbide-CIPC per ha voor tulpen en 3 liter/ha voor hyacinthen (= resp. 1,6 en 1,2 kg CIPC/ha). Later zou blijken dat ook in veel hogere concentraties geen schade werd veroorzaakt. Teneinde voor beide gewassen het meest gunstige tijdstip te bepalen werden de volgende proeven aangelegd.

Hyacinthen

Bespuitingen met 3 liter Triherbide-CIPC/ha in begin November, begin December, midden Januari en begin Maart. Bij de laatste bespuiting waren de neuzen juist zichtbaar. De onkruiden hadden begin November kiemblaadjes of ten hoogste 2 echte blaadjes; tijdens de latere bespuitingen 2-4 echte blaadjes. Verder was iets overgebleven muur aanwezig.

	Aantallen onkruiden /M² aan het einde v.d. proef (muur kon niet worden geteld)			Rooigewicht uitgedrukt in % van plantgewicht
	diversen	kl. brandnetel	kruiskruid	
Begin November	—	26,5	9,5	90,6
Begin December	0,5	1,5	14	98,7
Midden Januari	1	1	25	95,8
Begin Maart	—	4	8,5	96,9
Onbehandeld	1	60,5	13,5	89,1

Conclusie Hyacinthen :

1) Geen der behandelingen gaf schade aan het gewas.

2) Alle behandelingen gaven een goede onkruidbestrijding, behalve de eerste, welke kleine brandnetel niet voldoende bestreed.

3) Kruiskruid werd door geen der behandelingen bestreden.

Tulpen (zie fig. 1 en 2)

Bespuitingen met 4 liter Triherbide-CIPC per ha in begin December, begin Februari en half Maart. Bij de twee laatste bespuitingen waren de neuzen juist boven de grond. Ontwikkeling der onkruiden 2-4 echte blaadjes. Verder iets overgebleven muur.

	Stand v/h gewas op 31/6	Onkruiddoding op 31/6	Plantgewicht	Rooigewicht			Totaal rooigew. in % v. plantgew.
				leverb.	plantg.	totaal	
Begin Dec.	10	9	870	1685	660	2345	269,5
Begin Febr.	10	7½	880	1355	650	2005	227,8
Midden Mrt.	10	8	870	1435	655	2090	240,2
Onbehand.	10	0	870	980	455	1345	164,4
Handgewied	10	—	830	1405	505	1910	230,1

Fig. 1 en 2. — Triherbide-CIPC in tulpen.

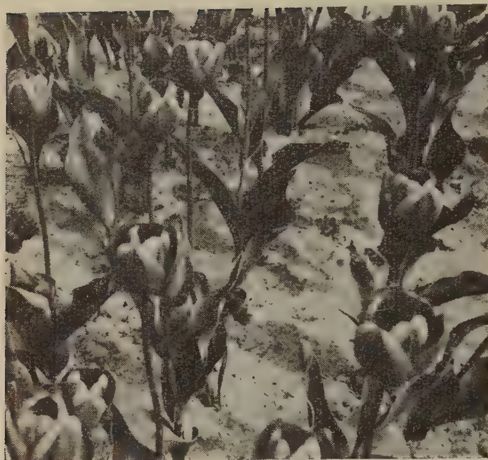


Fig. 1. — Gespoten begin februari met 4 liter/ha.

Fig. 2. — Onbehandeld.

Conclusie Tulpen :

1) Geen der behandelingen gaf schade aan het gewas.
2) Alle behandelingen gaven een goede tot zeer goede onkruidbestrijding.
3) De eerste behandeling was relatief de beste.
4) Het onbehandelde gewas was sterk achtergebleven door de onkruidconcurrentie.

Tenslotte werd op 14 April 1956 een proef op praktijkschaal in tulpen genomen op geestgrond met 4 liter Triherbide-CIPC per ha. De tulpen waren toen ca. 15 cm boven de grond. De proef was een volledig succes. Alleen enkele kruiskruidplanten en een heel enkele meldeplant werden niet bestreden. De bedden bleven gedurende het groeiseizoen praktisch schoon, terwijl de controlebedden na 3 maal schoffelen weer geheel waren vervuild.

Ook een praktijkproef in hyacinthen over het gewas gespoten, slaagde volkomen. Tenslotte werd in 1957 over hyacinthen gespoten toen de bloemtros juist zichtbaar werd met 4, 6 en 8 liter Triherbide-CIPC per ha. Nergens trad enige schade op.

Conclusie Bloembollen

Onkruidbestrijding met Triherbide-CIPC in bloembollen, zowel vóór opkomst als over het gewas, is zeer goed mogelijk zonder schade aan het gewas. Op lichte gronden is 4 liter/ha voldoende, op zwaardere gronden verdient het aanbeveling iets meer te gebruiken, bijv. 5-6 liter/ha. De onkruiden moeten in het kiemstadium verkeren; na de toediening der CIPC mag geen enkele grondbewerking worden toegepast. Het tijdstip volgens de kalender is van minder belang; de toestand der onkruiden is doorslaggevend.

Uitgeplante Groentegewassen

Het ligt voor de hand aan te nemen dat naast bloembollen ook uitgeplante groentegewassen geschikt zijn voor behandeling met CIPC.

Pootuien

Op 6 Mei 1955 gepoot op zandige grond. Gespoten werd met 2 en 4 liter Triherbide-CIPC per ha (=resp. 0,8 en 1,6 kg CIPC/ha) en wel op : 20 Mei, de onkruiden hadden toen nog slechts kiemblaadjes en op 24 Mei, de onkruiden hadden toen 2 echte blaadjes.

	Spuit-datum	Stand gewas 31/5	Gewicht onkruid M^2 29/6	Onkruidsortiment op 29/6
Trih. CIPC 2 l/ha	20/5	8	390	kruiskr. knopkr. melde, straatgras, diversen
„ 4 „	„	8	94	knopkruid, muur, straatgras, diversen
„ 2 „	24/5	9	1503	kruiskr., knopkr., herderst., muur, zw. nachtschade, straatgras, diversen
„ 4 „	„	9	1387	kruiskr., knopkr., straatgras, diversen
Onbehandeld	—	10	1577	kruiskr., knopkr., kl. brandn., herderst., muur, zw. nachtschade, straatgras, diversen

Door het wegvallen van uienplanten (uienvlieg) was het niet mogelijk het eindgewicht van het gewas te bepalen. De behandelde nog aanwezige planten waren echter bij de onbehandelde in geen enkel opzicht achtergebleven. Hoewel dus aanvankelijk een kleine achterstand van het gewas aanwezig leek, was deze later geheel verdwenen.

Op 8 Juni 1956 gepoot op zandige grond. Gespoten op 12 Juni toen de onkruiden zich in het kiembladstadium bevonden. In deze proef werden ook Triherbide-CIPC-droog en DNC-ammonium (80%-ig) toegepast.

	Stand v. h. gewas op : 4/7	24/7	Gewicht onkruiden per M^2 op 14/9
Trih. CIPC 4 l/ha	8	8	495
Trih. CIPC-droog 4 kg/ha	9	9	1360
„ 2 „ + DNC-amm.-(80%ig) 2½ „	7	6	1845
„ 2½ „	6	4½	1435
Onbehandeld	10	10	5500

Conclusie Pootuien :

1) Toepassing van Triherbide-CIPC in pootuien, nadat de planten zich van het overplanten hebben hersteld, lijkt zeer goed mogelijk. Hoewel het gewas eerst misschien licht wordt geremd, komt dit later niet meer tot uitdrukking.

2) Het stadium van het onkruid bleek weer van overwegend belang. Met 2 liter/ha in het juiste stadium (kiemblaadjes) werd veel beter resultaat bereikt dan met 4 liter/ha in een iets later stadium (2 echte blaadjes).

3) Met 4 liter/ha werd een iets beter effect verkregen dan met 2 liter/ha.

4) Triherbide-CIPC-droog werkt minder dan Triherbide-CIPC-vloeibaar.

5) Toevoeging van DNC heeft geen zin.

Sla (zie Fig. 3-7)

Geplant op 6 Mei 1955 op zandige grond. Gespoten met 2 en 4 liter Triherbide-CIPC per ha (=resp. 0,8 en 1,6 kg/CIPC/ha) en wel op : 20 Mei, de onkruiden hadden toen nog slechts kiemblaadjes en op 24 Mei, de onkruiden hadden toen 2 echte blaadjes.

Fig. 3 t/m 7. — Triherbide-CIPC in sla.

Fig. 3. — 2 liter/ha, onkruiden met 2 echte blaadjes.

Fig. 4. — 4 liter/ha, onkruiden met 2 echt blaadjes.

Fig. 5. — 2 liter/ha, onkruiden alleen met kiemblaadjes.

Fig. 6. — 4 liter/ha, onkruiden alleen me kiemblaadjes.

Fig. 7. — Onbehandeld.

	Spuit-datum	Stand gewas 31/5	Gemid. kropge-wicht	Ge-wicht Onkr. per M² 6/7	Gewicht onkruiden/M² op 6-7								
					melde	her-ders-tasje	knop-kruid	kruis-kruid	zw. nacht-schade	gras	kl. brand-netel	muur	diver-se Di-cot.
PC 2 l/ha	20–5	8	328	539	107	107	13	133	13	67	26	13	60
4 ,,	,,	7	311	317	3	7	187	80	—	33	—	—	7
2 ,,	24–5	9	321	2738	26	93	1053	1493	—	26	—	—	47
4 ,,	,,	(6)*	(210)*	746	20	40	253	387	—	20	—	—	26
ndeld.	—		201	3348	373	240	793	753	33	107	683	213	153

(*) Deze cijfers zijn niet betrouwbaar. Door onbekende oorzaak waren de slaplanten van het begin af aan, dus reeds voor de CIPC behandeling, ten achter.

Conclusie Sla :

1) Toepassing van Triherbide-CIPC in sla, nadat deze zich van het overplanten heeft hersteld, lijkt zeer goed mogelijk. Hoewel het gewas misschien eerst licht geremd wordt, was de eindopbrengst behoorlijk. Dat deze aanzienlijk hoger was dan „onbehandeld" zegt in dit geval weinig, daar de onbehandelde planten door de onkruid-concurrentie sterk waren geremd.

Als eèn bijkomstig voordeel moet worden gezien dat door het achterwege blijven van schoffelen minder kans op beschadiging der slaplanten en daardoor minder kans op het optreden van „smeul" (Botrytis cinerae) bestaat.

2) Het stadium der onkruiden bleek weer van overwegend belang (vergelijk pootuien).

3) Met 4 liter Triherbide-CIPC werd een betere onkruidbestrijding verkregen dan met 2 l/ha.

Andijvie

Een proef in uitgeplante andijvie, nadat de planten zich hadden hersteld, met 4 liter Triherbide-CIPC per ha, slaagde volkomen. Het was door tijdgebrek niet mogelijk nadere gegevens te verzamelen.

Conclusie uitgeplante Groentegewassen

Onkruidbestrijding met Triherbide-CIPC in uitgeplante groentegewassen, nadat deze zich van het overplanten hebben hersteld, is goed mogelijk. Op lichte gronden is 4 liter/ha voldoende, op zwaardere gronden verdient het aanbeveling iets meer te proberen, bijv. 5-6 liter/ha. De onkruiden moeten in het kiemstadium verkeren en liefst nog geen echte blaadjes hebben. Na de bespuiting moet geen grondbewerking worden toegepast.

Gezaaide Groentegewassen

Hoewel het voor de hand ligt aan te nemen dat uitgeplante gewassen eerder voor behandeling met CIPC in aanmerking komen dan gezaaide gewassen omdat bij eerstgenoemde de wortels zich direkt op een bepaalde diepte in de grond bevinden buiten de werkingsfeer van het CIPC, terwijl bij de laatsgenoemde de wortels

der jonge planten zich meer oppervlakkig zullen bevinden en wel min of meer op hetzelfde niveau als de wortels der onkruiden, zijn er toch enkele gezaaide gewassen waarin CIPC met succes kan worden toegepast zoals spinazie, wortelen, zaaiuien en bonen (voor de verklaring hiervan zie blz. 594/5).

Spinazie

Gezaaid 17 Meï 1955. Gespoten 20 Mei (dus voor opkomst) resp. met 2 en 4 liter Triherbide-CIPC (= resp. 0,8 en 1,6 kg CIPC) en met 2½ en 5 kg Trifocide (DNC-ammonium, 80%-ig) per ha. De onkruiden hadden nog geen echte blaadjes.

	Controle op 31/5		Eindcontrole op 25/6						
	Stand-gewas	Onkruid doding	Oogst-gew./M²	Gewicht onk. /M²	Kruis-kruid	Knop-kruid	Melde	Muur	Kleine brandn.
Trih.-CIPC 2 l/ha	9	8	1613	19	13	3	1	2	—
Trih.-CIPC 4 l/ha	7	8	1767	54	23	27	2	1	1
Trifocide 2½ kg/ha	8	9	1687	50	1	2	—	—	47
Trifocide 5 kg/ha	6	10	1100	15	2	—	—	—	13
Onbehandeld.	10	0	1867	839	73	40	107	113	493

N.B. In de onbehandelde spinazie, welke overwoekerd was door onkruid kwam veel „wolf" (Perenospora spinaceae) voor.

Teneinde na te gaan of de behandeling in een later stadium ook nog mogelijk was werd in 1956 een tijdstippenproef genomen met Triherbide-CIPC-vloeibaar in 4 liter/ha en Triherbide-CIPC-droog in 4 kg/ha (beide preparaten bevatten dus 1,6 kg actieve stof/ha). Gezaaid op 22-8. Gespoten op :

28-8 : spinazie komt op, onkruiden in kiembladstadium;
5-9 : spinazie in kiembladstadium, onkruiden met 2-4 echte blaadjes;
10-9 : spinazie met hartblaadjes, onkruiden met 4-6 echte blaadjes.

	Spuit-datum	Stand-gewas 27-9	Eindcontrole op 3-10	
			Gewicht gewas/M²	Gewicht onkruid/M²
Trih.-CIPC –dr.	28–8	4	430	270
„ –vl.	„	4	260	300
„ –dr.	5–9	5	590	400
„ –vl.	„	6	520	350
„ –dr.	10–9	6	800	500
„ –vl.	„	6½	620	470
Onbehandeld.	—	8	900	2910

Conclusie Spinazie :

1) Triherbide-CIPC kan kort na het zaaien in spinazie worden toegepast met goed onkruiddodend effect. De toediening 3 dagen na het zaaien gaf een geringe oogst-depressie; het verdient wellicht aanbeveling direct na het zaaien te spuiten.

2) Bij opkomst van het gewas of daarna gaf CIPC aanzienlijke schade.

3) De droge vorm van CIPC werkte ook hier in het algemeen iets langzamer en minder krachtig dan de vloeibare.

4) DNC (Trifocide) in 2½ kg/ha kort na het zaaien gaf ook een goede onkruidbestrijding. Of bij regen na toepassing het gewas niet zal worden beschadigd staat te bezien.

Wortelen

Gezaaid 20 April 1955; 3 Mei wortelen komen op. Gespoten 11 en 20 Mei met Triherbide-CIPC in 3 liter/ha (= 1,2 kg CIPC/ha). De opzet was om voor opkomst te spuiten, dit was door omstandigheden niet mogelijk. De onkruiden waren reeds te groot om nog een goede onkruidbestrijding te verwachten. Er waren plaatselijk overjarige klaverplanten aanwezig, welke niet werden bestreden. Wanneer men bovendien in aanmerking neemt dat kruiskruid moeilijk te bestrijden is valt het resultaat nog mee.

	Spuit-datum	Eindcontrole op 9-7										
		Gewicht gewas /M²	Gewicht onkr. /M²	kruiskruid	zw. nachtschade	gras	herd. tasje	klaver	muur	kl. brandnetel	melde	diversen
..-CIPC 3 l/ha	11–5	1993	670	33	27	67	43	460	—	—	—	40
..-CIPC 3 l/ha	20–5	1647	1140	967	—	—	67	100	—	—	—	7
..behandeld.	—	520	2430	23	27	—	13	—	493	1753	120	—

In 1956 werd een tweede proef ingezet waarbij Triherbide-CIPC-droog en vloeibaar zowel voor als na opkomst werden toegepast. Triherbide-CIPC-droog in 4 kg/ha, Triherbide-CIPC-vloeibaar in 4 liter/ha (= beide 1,6 kg CIPC/ha). Gezaaid 31/5 (één bed voorgezaaid op 28/5). Op 4/6 werd p. e. gespoten nl. toen het voorgezaaide bed opkwam. Op 29/6 werd nogmaals gespoten, de wortelen hadden toen 2 echte blaadjes.

	Spuit-datum	Eindcontrole	
		Gewicht gewas/M²	Gewicht Onkruid/M²
Trih.-CIPC-vl. 4 l/ha	4–6	5130	1900
,, dr. 4 kg/ha	4–6	4900	2220
,, vl. 4 l/ha	29–6	4630	2920
,, dr. 4 kg/ha	29–6	5275	3000
Handgewied	—	4630	—
Onbehandeld	—	2860	5600

Conclusie wortelen

1) Triherbide-CIPC kan zowel voor als na opkomst toegepast worden zonder merkbare schade aan het gewas. Anderen (24) kregen soms schade bij toepassing na opkomst. Echter moet worden opgemerkt dat hier een ander oliehoudend product werd gebruikt.

2) Het onkruiddodend effect was in onze proeven matig doordat de onkruiden reeds iets te groot waren.

3) De droge vorm van CIPC werkte ook hier iets langzamer en minder krachtig dan de vloeibare.

Fig. 8, 9 en 10. — Triherbide-CIPC en Triherbide-DNBP in bonen.

← Fig. 8. —
CIPC + DNBP alle onkruiden gedood.
(rechts onbehandeld).

Fig. 9. — →
Alléén CIPC : nog enkele kruiskruidplanten aanwezig.
(rechts onbehandeld).

← Fig. 10. —
Overzicht proefveld.

Bonen (zie Fig. 8-10)

Stamslabonen gezaaid 30 Augustus 1956. Op 10 September toen de eerste bonen opkwamen werd gespoten met Triherbide-CIPC-vloeibaar en droog resp. in 4 l/ha en 4 kg/ha (= beide CIPC 1,6 kg/ha) wèl en niet gecombineerd met Triherbide-DNBP-vloeibaar in 7,5 l/ha (= 1 kg DNBP/ha) en Triherbide-DNBP-droog in 1,5 kg/ha (= 0,75 kg DNBP/ha). Doordat de proef zeer laat in het seizoen werd genomen was het niet mogelijk opbrengstcijfers te bepalen. Het gewas had echter door geen der bespuitingen geleden.

	Eindcontrole op 26-10				
	Gewicht onkruid per M²	muur	kruiskruid	diverse Dicot.	gras
Trih.-CIPC-vl.4 l/ha	230	13	95	80	42
Trih.-CIPC-dr.4 kg/ha	412	27	280	55	50
Trih.-CIPC-vl.4 l/ha + Trih.DNBP-vl.7½ l/ha	50	10	3	7	30
Trih.-CIPC-vl.4 l/ha + Trih.DNBP-dr.1½ kg/ha	80	15	3	5	57
Trih.-CIPC-dr.4 kg/ha + Trih.DNBP-vl.7½ l/ha	117	7	15	5	90
Trih.-CIPC-dr.4 kg/ha + Trih.DNBP-dr.1½ kg/ha	38	3	5	—	30
Trih.DNBP-vl.7½ l/ha	627	155	2	10	460
Trih.DNBP-dr.1½ kg/ha	2095	605	—	—	1490
Onbehandeld	4575	3675	30	260	610

Conclusie Bonen :

1) Triherbide-CIPC kan met succes worden toegepast in bonen kort voor opkomst van het gewas. Kruiskruid wordt niet bestreden.

2) Bij toevoeging van DNBP wordt een iets betere bestrijding verkregen, vooral door de bestrijding van het kruiskruid door dit middel. Is dit onkruid echter niet in belangrijke mate aanwezig, dan is toevoeging van DNBP overbodig.

3) DNBP alléén bestrijdt grassen en muur onvoldoende.

4) De droge vorm van CIPC werkte ook hier weer iets langzamer en minder krachtig dan de vloeibare.

Conclusie gezaaide Groentegewassen

Onkruidbestrijding met Triherbide-CIPC vóór of kort na opkomst van het gewas is in verschillende groenten goed mogelijk. Voor elk gewas zal moeten worden nagegaan wat het meest geschikte tijdstip is. Bovengenoemde proeven geven reeds enige aanwijzing doch verder onderzoek is noodzakelijk. Ook in een ouder stadium der gewassen is onkruidbestrijding veelal goed mogelijk. Het bezwaar dat in dit stadium de onkruiden wellicht de meest geschikte ontwikkeling zullen hebben overschreden kan worden ondervangen door vóór het spuiten mechanische onkruidbestrijding toe te passen.

Discussie

Hoewel er tussen IPC en CIPC wat betreft hun herbicide werking verschillen in selectiviteit bestaan, welke bij IPC het grootst is, terwijl dit middel ook meer specifiek is tegen grassen, wordt de praktische toepassing dezer preparaten toch bepaald

door het verschil in de mate van doordringen in de grond (dieptewerking).

Aangezien de dieptewerking van CIPC 4 à 5 cm bedraagt in tegenstelling tot het IPC, welk middel tot 20 à 25 cm beneden het bodemoppervlak kan doordringen, zal CIPC als herbicide de voorkeur verdienen ter bestrijding van onkruiden in vrij oppervlakkig wortelende cultuurgewassen.

IPC daarentegen zal zonder bezwaar kunnen worden toegepast in diepwortelende gewassen (bomen en heesters) en in die gewassen welke voor IPC relatief ongevoelig zijn. In deze cultures zal het mogelijk zijn naast de oppervlakkige zaadonkruiden ook zaden welke in diepere lagen kiemen en overjarige grassen, welke al dan niet van wortelstokken zijn voorzien, in meerdere of mindere mate te bestrijden.

Zoals uit de voorgaande literatuurbeschouwing is gebleken zijn er talrijke factoren welke de herbicide werking der isopropylphenylcarbamaten ongunstig kunnen beïnvloeden. De voornaamste hieronder zijn :

1. hoge bodemtemperaturen boven 20° C;
2. droogte;
3. slagregens;
4. bodemtype.

Wanneer tijdens en na toediening van IPC en CIPC de bodemtemperaturen hoog zijn, wordt het nuttig effect der bespuitingen sterk gereduceerd, terwijl bij aanhoudende droogte de herbicide werking geheel te niet kan worden gedaan.

Door overmaat aan regen kunnen genoemde middelen worden uitgespoeld. De mate van uitspoeling is groter op poreuze zand- en humeuze gronden dan op compacte kleiachtige gronden (3).

Voor het verkrijgen van een maximaal effect echter zullen IPC en CIPC toegediend moeten worden wanneer de bodemtemperatuur betrekkelijk laag en de grond vochtig is. Een lichte regen na toediening zal zeer gunstig zijn omdat hierdoor wordt verkregen dat de middelen zich goed met de grond vermengen waardoor een innig contact met de kiemende onkruidzaden wordt bewerkstelligd. Kunstmatig beregenen kan in sommige gevallen van nut zijn.

Behalve de genoemde uitwendige factoren echter, welke essentieel zijn ter verkrijging van de meest gunstige resultaten, dient er evenwel met nadruk op te worden gewezen dat het groeistadium waarin de onkruiden verkeren het onkruiddodend effect zeer sterk kan beïnvloeden. Daar IPC en CIPC wortelherbiciden zijn die nadat ze door de jonge wortels zijn opgenomen, de groei hiervan remmen, zullen deze middelen maximaal effectief zijn wanneer de onkruidplanten zich in het kiemstadium bevinden.

Met een toename van de leeftijd der onkruiden neemt het nuttig effect snel af.

De grote verschillen in dosering welke door verschillende onderzoekers worden geadviseerd, hangen o.i. ten nauwste samen met plaatselijke bodem- en klimaatsverschillen en de ontwikkelingsstadia der onkruiden.

Uit onze proeven met CIPC is gebleken, dat wanneer men de onkruiden behandelt in het juiste ontwikkelingsstadium, veelal met de helft van de gebruikelijke concentratie zou kunnen worden volstaan. In verschillende proeven gaven 2 liter/ha van het 40 procentige product (Triherbide-CIPC) toegepast in het kiembladstadium een betere onkruiddoding dan 4 liter/ha op het moment dat de onkruiden 2-4 echte blaadjes hadden.

De normale dosering welke thans in Nederland in de praktijk wordt toegepast op zandige gronden bedraagt 4 liter/ha van het 40 procentige product; voor zwaardere kleiachtige gronden en op veenachtige gronden wordt 5-6 liter/ha aanbevolen.

SAMENVATTING

IPC en CIPC zijn wortelherbiciden.

IPC werkt meer selectief dan CIPC en is meer specifiek tegen grassen.

IPC dringt dieper in de bodem dan CIPC, het heeft een kortere nawerking.

In verband hiermede is IPC meer geschikt om ook dieper gelegen onkruidzaden en overjarige grassen in diepwortelende of relatief resistente gewassen te bestrijden.

CIPC is meer geschikt voor onkruidbestrijding in minder diep wortelende gewassen zoals bol- en knolgewassen en uitgeplante gewassen, het kan ook in bepaalde gezaaide gewassen worden toegepast.

De factoren welke van belang zijn voor een goede onkruidbestrijding worden beschreven.

Het stadium waarin de onkruiden verkeren is van doorslaggevend belang; vooral bij CIPC moeten deze het kiembladstadium liefst niet hebben overschreden. Ook in een nog jonger stadium, dus nog vóór het verschijnen der kiemblaadjes, wordt een zeer goede onkruidbestrijding verkregen. Naarmate er meerdere echte blaadjes verschijnen neemt de onkruidbestrijdende werking echter snel af.

Triherbide-CIPC (bevat 40% actieve stof) wordt in Nederland in de praktijk op zandige gronden toegepast in 4 liter/ha; op zwaardere kleiachtige gronden en op veenachtige gronden wordt 5-6 liter/ha aanbevolen.

SUMMARY

Some experiments with CIPC as a selective weedkiller together with a discussion on CIPC as compared with IPC (propham)

IPC and CIPC are rootgrowth inhibiting herbicides.

IPC acts more selectively than CIPC does. It is more specific against grasses.

Therefore IPC is most suitable for controlling also deeper situated weedseeds and perennial grasses in deeprooted and relatively resistant crops.

CIPC is most suitable for weedcontrol in crops which are less deep-rooted e.g. bulb- and tubercrops and transplanted crops. It can also be used in certain sown crops.

Conditions important for succesful weedcontrol are described.

The stage of development of the weeds is of paramount importance. Especially in the case of CIPC the cotyledon-stage should preferably not be surpassed. In still earlier stages, i.e. before cotyledons have developed, excellent weedcontrol is also possible. According as more true leaves develop the weedcontrolling effect rapidly decreases.

Triherbide-CIPC (containing 40% active ingredient) is used in practice in the Netherlands on sandy soils in 4 litres/ha; on heavier clayish soils and on peaty soils 5-6 litres/ha are recommended.

Naamlijst van Onkruiden

Brandnetel, kleine	Urtica urens
Herderstasje	Capsella Bursa-pastoris
Klaver	Trifolium repens
Knopkruid	Galinsoga parviflora
Kruiskruid	Senecio vulgaris
Kweekgras	Agropyron repens
Melde	Atriplex patula
Muur	Stellaria media
Nachtschade, zwarte	Solanum nigrum
Straatgras	Poa annua

LITERATUUR

1. ALLARD, R. W., DE ROSE, H. R., and SWANSON, C. P. — Some effects of plant growth regulators on seed germination and seedling development. *Bot. Gaz.* 107 : 575-583. 1946.

1a. BALDWIN, R. E., FREED, V. H., and FANG, S. C. — Absorption and translocation of Carbon-14 applied as O-Isopropyl N-Phenyl Carbamate in Avena and Zea. *Agr. and Food Chem.* 2/8 : 428-430. 1954.

2. BLACKMAN, G. E., TEMPLEMAN, W. G., and HALLIDAY, D. J. — Herbicides and selective phytotoxicity. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 2 : 199-230. 1951.

3. BURSCHEL, P. — Untersuchungen über die Wirkungsweise von Chlor-IPC. *Med. Landbouwhogeschool, Gent.* XX/3 : 353. 1955.

4. BURSCHEL, P. — Untersuchungen über die Wirksamkeit von 3-(p-chlorophenyl)-1, 1-dimethyl Harnstoff und Isopropyl-N-(3-chloro-phenyl)-carbamat als Herbicide in der Forstwirtschaft. *Thesis Hann.* München 1955.

5. CARLSON, R. F. — Destruction of quackgrass rhizomes by application of isopropyl-N-phenylcarbamate. *Mich. Agr. Exp. Sta. Quart. Bul.* 29 : 274-280. 1947.

6. CRAFTS, A. S. — Herbicides. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 4 : 253-282. 1953.

7. DERSCHEID, L. A., and STAHLER, L. M. — Chemical control of weeds in South Dakota. *So. Dak. Agr. Exp. Sta. Cir.* 69 : 1-14. 1948.

7a. DORSMAN, C. — Chemische onkruidbestrijding in de Boomkwekerij. *De Boomkwekerij* 11/2 : 11-14, 1955.

8. DOXY, D. — The effect of isopropyl carbamate on mitosis in rye (Secale cereale) and onion (Allium cepa). *Ann. of Bot.* 13 : 329-396. 1949.

9. ENNIS, W. B. Jr. — Some cytological effects of O-isopropyl n-phenyl carbamate upon Avena. *Amer. Journ. Bot.* 35 : 15-21. 1948.

10. ENNIS, W. B. Jr. — Responses of crop plants to o-isopropyl n-phenyl carbamate. *Bot. Gaz.* 109 : 473-493. 1948.

11. ENNIS, W. B. Jr. — Histological and cytological responses of certain plants to some arylcarbamic esters. *Amer. Jour. Bot. Vol.* 36, No. 12. 823. Abstr. 1949.

12. FEEKES, F. H. — Selectieve onkruidbestrijding met Isopropyl-N-Phenyl-Carbamaat (IPC) en Natrium-Isopropyl-Xanthaat (NIX). *Med. Landbouwhogeschool, Gent.* XVIII/2 : 455-476. 1953.

13. FOY, C. L. — Effectiveness of isopropyl N-(3-chlorophenyl) carbamate as a selective pre-emergence herbicide in cotton. *Weeds* 3 : 282-291. 1954.

14. FREED, V. H., and BIERMAN, H. E. — A preliminary report on experiments to control quackgrass. *Stat. Circ. of Info.* No. 445. Dec. 1948.

15. FREED, V. H. — Some factors influencing the herbicidal efficacy of isopropyl N phenyl carbamate. *Weeds* 1 : 48-60. 1951.

16. FREED, V. H. — Herbicide mechanism- mode of action other than aryl oxyalkyl acids. *J. of Agr. and Food Chem.* 1 : 47-51. 1953.

17. GUZMAN, V. L., and WOLF, E. A. — Weed control in onion in the organic soil of the Florida Everglades. *Weeds* 3 : 66-75. 1954.

18. IVENS, G. W., and BLACKMAN, G. E. — The effect of phenylcarbamates on the growth of higher plants. *Repr. Symposia of the Soc. for Expt. Biol.* No. 3. *Cambridge University Press.* 1949.

19. MEADE, J. A., and KUHN, A. O. — The carbohydrate content of corn plants as affedted by isopropyl N-(3-chlorophenyl) carbamate. *Weeds* 4 : 43-49. 1956.

20. NEWMAN, A. S., DE ROSE, H. R., and DE RIGO, H. T. — Persistence of isopropyl N-phenyl-carbamate in soils. *Soil Science* 66 : 393-397. 1948.

21. NEWMAN, A. S., and DE RIGO, H. T. — Action of isopropyl n-phenylcarbamate under various conditions. *Weeds* 2 : 169-177. 1953.

22. NORMAN, A. G., MINAROK, C. E., and WEINTRAUB, R. L. — Herbicides. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 1 : 148-168. 1950.

23. OGLE, R. T., and WARREN, G. F. — Fate and activity of herbicides in soils. *Weeds* 3 : 257-273. 1954.

24. ORTH, H., und PASCH, G. M. — Erfahrungen mit dem Unkrautbekämpfungsmittel Prevenol 56 (CIPC) im Zwiebel- und Möhrenanbau des Düsseldorfer Raumes. *Rhein. Monatsschr. f. Gemüse-, Obst- und Gartenbau* 9, 1956.

25. PRAY, B. O., and WITMAN, E. D. — Comments : On distribution of CIPC in soil. *Weeds* 2 : 300-301. 1953.

26. RIES, S. K. — A theory for the selective mechanism of chlor-IPC. *Weeds* 2 : 155-159. 1953.
27. DE ROSE, H. R. — Crabgrass inhibition with o-isopropyl n-(3-chlorophenyl) carbamate. *Proc. NEWCC. 5th. annual meeting* 183. 1951.
28. SCOTT, D. H., SHAW, W. C., and RUPPENTHAL, R. W. — Evaluation of several chemicals for weed control in strawberry fields. *Weeds* 3 : 192-207. 1954.
29. SHAW, W. S., and SWANSON, C. R. — The relation of structural configuration to the herbicidal properties and phytotoxicity of several carbamates and other chemicals. *Weeds* 2 : 43-65. 1953.
30. SMITH, R. J., and ENNIS, W. B. Jr. — Studies on the downward Movement of 2,4-D and CIPC in Soils. *Southern Weed Conf. 6th Proc.* 63-71, 1953.
31. v. STAALDUINEN, D. — Ervaringen bij onkruidbestrijdingsproeven in Aardbeien. *Med. Landbouwhogeschool, Gent.* 1957, **22**, 617.
32. STEVENS, L. F., and CARLSON, R. F. — The effects of chloro-IPC on various crops and its residual properties in various soils. *NEWCC. 6th. Proc.* : 33-44. 1952.
33. SWANSON, C. R., SHAW, W. C., and HUGHES, J. H. — Some effects of isopropyl N-(3-chlorophenyl) carbamate and an alkanolaminesalt of dinitro ortho secondary butylphenol on germinating cottonseeds. *Weeds* 2 : 178-189. 1953.
34. TAYLOR, D. L. — Growth of field crops in soil treated with chemical growth regulators. *Bot. Gaz.* 108 : 432-445. 1947.
35. TEMPLEMAN, W. G., and SEXTON, W. A. — Effect of some arylcarbamic esters and related compounds upon cereals and other plant species. *Nature.* London. 156 : 630. 1945.
36. TEMPLEMAN, W. G., and SEXTON, W. A. — The differential effect of synthetic growth substances and other compounds upon plant species. II. Seed germination and early growth responses to some arylcarbamic esters and related compounds. *Proc. Royal Soc.* London, B, 133, 480-485. 1946.
37. TOMIZAWA, C., and KOIKE, H. — Studies on herbicides. *Bul. of the Natl. Inst. of Agr. Sciences* (Japan). Series C : 25-73. 1954.
38. WEAVER, R. J. — Reaction of certain plant growth regulators with ion exchangers. *Bot. Gaz.* 109 : 72-84. 1948.
39. WIESE, A. F., and DUNHAM, R. S. — Pre planting application of IPC and CIPC for selective control of wild oats (Avena fatua). *Weeds* 3 : 321-336. 1954.
40. WITMAN, E. D., and NEWTON, W. F. — Chloro IPC- a new herbicide. *Proc. NEWCC. 5th annual meeting* 45. 1951
41. WOLCOTT, A. R., and CARLSON, R. F. — Preliminary report on field application of isopropyl-phenylcarbamate in the control of quackgrass in an established soil. *Mich. Agr. Exp. Sta. Quart. Bull.* 30 : 218-229. 1947.
42. DE ZOETE, A. — Nieuwe mogelijkheden bij de onkruidbestrijding in bloembollen. *Weekbl. v. Bloembollencultuur* 67/26 : 408. 1957.
43. v. d. ZWEEP, W. — Het onkruidbestrijdingsonderzoek in Boomkwekerijgewassen in Nederland. *Med. Landbouwhogeschool, Gent.* 1957, **22**, 629.

W. Van der Zweep, Nederland

V : Bij de wintertoepassingen van C.I.C.P. in Tulpen. Was dit over winterdek?

A : De tulpen waren in de desbetreffende proef niet gedekt.

ERVARINGEN BIJ ONKRUIDSBESTRIJDINGSPROEVEN IN AARDBEIEN

door

D. van Staalduine

Wageningen

I. Inleiding

De aardbeiteelt in Nederland breidt zich de laatste jaren voortdurend uit dank zij de goede prijzen die de telers voor de aardbeien ontvangen.

In 1946 bedroeg de oppervlakte 2315 ha. In 1956 was dit 4350 ha, waarmede het vooroorlogse areaal weer werd bereikt.

Onder de tuinbouwgewassen wordt de aardbei als één van de voornaamste gewassen beschouwd bij het streven naar een gehele of gedeeltelijke vervanging van het tijdrovende frezen, schoffelen of handwieden door een toepassing van chemische onkruidbestrijdingsmiddelen.

Deze urgentie voor de aardbeiteelt wordt vooral bepaald door :

1. Het relatief hoge voor het bestrijden van onkruiden benodigde aantal arbeidsuren, dat per ha 500-1000 per jaar bedraagt.
2. De lokale structuur van de bedrijven. In de provincie Noord-Brabant, waar 50% van de aardbeien geteeld worden, heeft men tijdens en enige weken na de oogst onvoldoende tijd beschikbaar om te wieden, vanwege het oogsten van bessen, frambozen en bonen.
3. De teeltwijze. Op de Zuid-Hollandse Eilanden wordt een beddenteelt toegepast, waarbij het onkruid alleen met de handen verwijderd kan worden.
4. De teeltduur. De 2-4-jarige teeltduur bij enige rassen vereist, dat geen ernstige veronkruiding optreedt, daar anders de nadelige gevolgen hiervan ook in volgende produktiejaren tot uiting kunnen komen.

Hoewel bij ons onderzoek ook op uitgebreide schaal is nagegaan hoe het onkruid nà de oogst bestreden kan worden en hoe veronkruiding in het najaar kan worden tegengegaan zal thans

alleen worden ingegaan op de ervaringen met chemische middelen bij een toepassing in het voorjaar.

In een latere publikatie zullen alle ons ter beschikking staande gegevens besproken worden en vergeleken met literatuurgegevens over chemische onkruidbestrijding in aardbeien.

II. Bespreking van de proefresultaten

Bij aardbeien kan de invloed van in het voorjaar toegepaste chemische onkruidbestrijdingsmiddelen worden verdeeld in :

a. De invloed van de middelen op het gewas.

1. Op in april uitgeplante planten.
2. Op producerende planten vóór het uitlopen (omstreeks maart).

b. De invloed van de middelen op het onkruid.

Bij de bespreking kan in beide gevallen een onderscheid gemaakt worden tussen de werking van resp. :

1. Contactmiddelen.
2. Middelen met nawerking
3. Toepassingen, waarbij contactmiddelen en middelen met nawerking tegelijkertijd worden toegediend.

a. De invloed van de middelen op het gewas

1. *Op in april uitgeplante planten*

De proeven werden in 1955 genomen bij het ras Jucunda op kleigrond. Tien dagen na het uitplanten werd bespoten met IPC (Isopropyl-N-phenyl-carbamaat) en 2 doseringen van C-IPC (Isopropyl-N-(3-chloorphenyl) carbamaat) en EH_1 of SES (2,4-dichloorphenoxyaethylsulfaat, Na-zout).

Voor de doseringen wordt verwezen naar tabel 1 (1).

Tijdens het begin van de uitlopervorming werden de bespuitingen herhaald. Daar de bij de eerste bespuiting toegediende doseringen C-IPC te veel groeiremming veroorzaakt hadden, werden de doseringen van dit middel bij de 2^{e} toepassing verlaagd.

In andere proeven werden met het amine-zout van 2,4-D, 1 kg/ha, zowel vóór als na het uitplanten bespuitingen uitgevoerd.

Bespuitingen vonden steeds plaats met 1000 l vloeistof/ha.

Door de in de voorzomer gevormde ranken te tellen en te meten werd een indruk gekregen van de invloed van middelen en doseringen op de groeikracht van de planten.

---

(1) De doseringen zijn steeds aangegeven als hoeveelheden actieve stof per ha.

TABEL 1

Aardbeien Jucunda, geplant 20 April 1955 — CI 1887

Invloed van diverse middelen op de ontwikkeling en produktie

Situatie 22 juli 1955

Objecten	Aantal planten	Aantal ranken	Lengte ranken in cm/plant	Aantal bewortelde jonge planten	Opbrengst per 10 m^2 in kg	Sw
EH$_1$ 3,6 + 3,6 kg/ha	106	466	196	56	19.0	1.7
EH$_1$ 7,2 + 7,2 kg/ha	105	407	162	43	17.8	1.8
C-IPC 2,4 + 1,6 kg/ha	111	359	121	20	19.0	0.4
C-IPC 4 + 2,4 kg/ha	109	197	59	0	17.4	2.1
IPC 4 + 4 kg/ha	114	504	181	61	17.9	2.3
Schoffelen	108	493	194	76	18.2	3.0

Objecten bespoten : 30/4 en 22/6 1955.
Gehele proefveld : 21/3 1956 met DNC 4 kg/ha + C-IPC 1,6 kg/ha.
Bij de opbrengstbepaling : Sw van de enkele waarneming = 1.9.
Sw van de objectgemiddelden = 1,4.
Rangetoets : Geen betrouwbare verschillen (5% risico).

Uit tabel 1 blijkt, dat C-IPC een sterke groeiremming bij de planten veroorzaakt heeft. Deze uitte zich in een chlorotische verkleuring van de bladeren en het later inzetten van de rankvorming. Opvallend is echter, dat bij deze proef uiteindelijk de produktie alleen bij de hoogste gift nadelig beïnvloed werd. In een andere proef echter, eveneens op kleigrond genomen, veroorzaakte ook de laagste dosering een produktievermindering.

Onze indruk is, dat de directe invloed van C-IPC op het bovengrondse deel van de aardbeiplanten althans bij de onderzochte doseringen te groot is om zonder verder onderzoek toepassing in de praktijk te kunnen aanbevelen.

Bij IPC en EH$_1$ (SES) is na een bladbespuiting geen directe remming van het gewas geconstateerd. Bij geen van de drie onderzochte middelen menen we een sterke directe invloed te moeten aannemen op de uitbreiding van het wortelstelsel van de jonge plant. Deze vindt aanvankelijk vooral plaats in een bodemlaag, welke weinig door de middelen wordt beïnvloed.

2,4-D beïnvloedde bij een toepassing vóór het uitplanten het gewas nadelig. Toepassingen die 3 en 7 weken na het planten werden uitgevoerd, veroorzaakten wel groeistofachtige symptomen, doch gaven geen produktieverlaging.

2. *Op producerende planten voor het uitlopen (omstreeks maart)*

Daar vanaf oktober tot maart mechanische bestrijdingsmethoden niet of slecht uitvoerbaar zijn, kunnen in maart aardbeipercelen sterk veronkruid zijn door de ontwikkeling van in het

najaar gekiemde onkruiden. Bij onze proeven vonden daarom bespuitingen in maart plaats aan het einde van de rustperiode van de planten, op het laatst op het moment dat de eerste jonge blaadjes zichtbaar werden.

Om het overwinterde onkruid te bestrijden werd gebruik gemaakt van contactmiddelen. Middelen met nawerking werden gebruikt om kieming van onkruiden tegen te gaan.

Gecombineerde toepassingen van contactmiddelen en middelen met nawerking hadden ten doel zowel het aanwezige onkruid te bestrijden en kieming van onkruid te voorkomen.

De resultaten van de in drie voorjaren uitgevoerde bespuitingen kunnen als volgt worden samengevat :

1. Contactmiddelen

Jucunda verdraagt ,,pre-emergence''-toepassingen van DNC 4 kg act. mat./ha (ammoniumzout) of van PCP-olie 30 l 10%-ig produkt/ha. Bij toepassingen van hogere hoeveelheden bestaat er echter een kans op schade. Deutsch Evern en Climax zijn gevoeliger voor DNC en PCP-olie dan Jucunda, hoewel gunstige resultaten mogelijk zijn.

De mindere tolerantie van deze rassen voor DNC en PCP-olie is wellicht ten dele te verklaren door het feit, dat deze rassen op het moment van bespuiten fysiologisch verder ontwikkeld zijn en de ,,herstel''-periode tot aan de oogst korter is dan voor Jucunda.

Shell AD (allesdodende olie) en VBC gaven bij hoeveelheden van resp. 750 l en 75 l/ha grote schade aan het gewas.

Of bij vroege rassen bespuitingen midden in de winter mogelijk zijn, wordt nog nagegaan. Ditzelfde geldt voor Shell AD en VBC.

2. Middelen met nawerking

Indien na de winter geen onkruid voorkomt of indien dit verwijderd is, behoeft geen contactmiddel gebruikt te worden.

Jucunda en Madame Moutot ondervonden in de proeven wel wat groeiremming van C-IPC (1,6 kg/ha), doch een invloed op de produktie werd door ons niet waargenomen.

,,Late'' bespuitingen met C-IPC in april, op een gewas met veel jonge blaadjes, veroorzaakten een tamelijk sterke chlorotische verkleuring der bladeren gepaard gaande met een vrij sterke groeiremming.

We hebben de indruk, dat IPC (5 kg/ha) wel schade aan het gewas kan geven. Zeer waarschijnlijk wordt dit mede bepaald door de grotere oplosbaarheid in water van dit middel t.o.v. C-IPC.

Toepassingen van EH_1 (SES) 3,6 kg/ha in maart 1955 en 1956 bleken bij diverse rassen funeste gevolgen te hebben. De planten kwamen zeer laat tot ontwikkeling en hadden zeer weinig bloemen.

In het voorjaar van 1957 bleken Jucunda-aardbeien de genoemde dosering EH_1 goed te kunnen verdragen. De vraag komt naar voren in hoeverre deze uiteenlopende gevoeligheid bepaald is geworden door de verschillen in strengheid van de winter, welke aan de behandelingen voorafgingen. Zowel in 1955 als in 1956 volgde de voorjaarsgroei vrij snel op zeer langdurige en koude vorstperioden, terwijl in de zachte winter van 1956-1957 de vitaliteit van het wortelstelsel gedurende de winter vermoedelijk niet in sterke mate is aangetast. Een sterk remmende werking van bestrijdingsmiddelen op de groei behoeft dan ook veel minder te worden aangenomen.

Onze ervaringen met middelen, die een zeer lange nawerking hebben, zoals CMU, 3-(p-chloorphenyl)-1,1-dimethylureum en Simazin, 2-chloor-4,6-bis (monoaethylamino)-s-triazine zijn nog beperkt.

CMU (monuron) en Simazin hadden in het droge voorjaar 1956 bij Deutsch Evern en Jucunda bij lage doseringen (0,4-0,6 kg/ha) geen nadelige invloed. De bespuitingen werden uitgevoerd op een reeds enigszins uitgelopen gewas. Bij DCMU (diuron) bleek een groeiremming in het gewas in de produktie tot uiting te komen.

In het voorjaar van 1957 hebben CMU, DCMU en Simazin onder vochtiger milieuomstandigheden schade gegeven.

Wij achten CMU en andere gesubstitueerde ureumverbindingen en Simazin moeilijk hanteerbare middelen voor selectieve toepassingen. De grondsoort en de regenval zijn sterk bepalend voor het in de grond dringen van de produkten, terwijl lokale overdoseringen zeker tot schade kunnen leiden.

3. Toepassingen, waarbij contactmiddelen en middelen met nawerking tegelijkertijd worden toegediend.

Bij Jucunda bleek, dat een toevoeging van C-IPC 1,6 kg/ha aan DNC of PCP-olie eenzelfde tijdelijke groeiremming veroorzaakte als een toepassing van C-IPC alleen. De produktie werd echter niet geschaad.

Ook bij Deutsch Evern (zie tabel 2) werden goede resultaten bereikt met de combinatie DNC + C-IPC en PCP-olie + C-IPC. DNC 8 kg/ha en VBC 75 l/ha gaven echter een produktievermindering te zien.

TABEL 2

Aardbeien Deutsch Evern, geplant Augustus 1955 — CI 2133

Opbrengst in grammen per plant

Objecten	Blokken				
	I	II	III	Gem.	Sw
1) DNC 4 kg/ha + C-IPC 1,6 kg/ha	30	32	43	35	7.7
2) DNC 6 kg/ha + C-IPC 1,6 kg/ha	40	44	48	44	4.7
3) DNC 8 kg/ha + C-IPC 1,6 kg/ha	24	33	41	33	10.0
4) AAmergens 40 l/ha + C-IPC 1,6 kg/ha	49	42	45	45	4.1
5) VBC 75 l/ha + C-IPC 1,6 kg/ha	17	29	25	24	7.1
6) Onbehandeld (tot 23 mei)	35	51	55	47	11.2
(Doseringen in act. st./ha)					
Gemiddeld	33	39	43	38	

Sw van de enkele waarneming = 7.5.
Sw van de objectgemiddelden = 4.3.
Rangetoets : Object 2, 4 en 6 > Object 5 (5% risico).

Ook hier echter achten wij het ,,late'' ras Jucunda veel minder gevoelig voor dergelijke bespuitingen dan rassen, die een vroegere oogsttijd hebben.

Terwijl gecombineerde toepassingen van C-IPC en DNC of PCP-olie bij Jucunda en soms wel bij Deutsch Evern gunstige resultaten opleverden, is duidelijk in proeven gebleken, dat de combinatie DNC of PCP-olie + EH_1 (SES) bij een bespuiting vóór het uitlopen van het gewas, zowel bij Deutsch Evern, Climax als Jucunda, tot grote beschadiging kan leiden.

Echter werd na een bespuiting met DNC of PCP-olie omstreeks begin maart en een aansluitende toepassing van EH_1 (SES) enige weken later op een reeds aan de groei zijnd gewas een veel geringere beschadiging geconstateerd (tabel 4).

TABEL 3

Aardbeien Jucunda, geplant April 1954 — CI 2134

Invloed van bespuitingen op produktie

Objecten	Opbrengst per 10 m²	Sw
A DNC 4 kg/ha + C-IPC 1,6 kg/ha	10.7	4
B ,, + ,, 3,2 kg/ha	11.3	6.6
C ,, + ,, 4,8 kg/ha	7.1	2.5
D ,, + EH_1 3,6 kg/ha	3.1	2.6
E ,, + EH_1 3,6 kg/ha(1)	9.0	0.3
F ,, + DCP 2,5 kg/ha	1.5	0.3
G Onbehandeld	11.2	4.6

Bespoten : 21-3-1956; (1) EH_2 op 3-4-1956.
Sw van de enkele waarneming = 3.0.
Sw van de objectgemiddelden = 2.4.

TABEL 4

Gevoeligheid van enige onkruiden in het kiemstadium voor carbamaten en EH_2

	Carbamaten	*EH_1*
Kleine brandnetel (Urtica urens L.)	× × ×	× ×
Perzikkruid (Polygonum persicaria L.)	× × ×	—
Varkensgras (Polygonum aviculare L.)	× × ×	×
Zwaluwtong (Polygonum convolvulus L.)	× × ×	—
Ganzevoet-soorten (Chenopodium sps.)	—	× ×
Melde-soorten (Atriplex sps.)	×	—
Muur (Stellaria media (L.) Vill)	× × ×	—
Hoornbloem (Cerastium holosteoides Fr.)...........	×	?
Spurrie (Spergula arvensis L.)	× × ×	?
Witte krodde (Thlaspi arvense L.)	× ×	× ×
Herderstasje (Capsella bursa-pastoris (L.) Med.)	× ×	× ×
Akkerviooltje (Viola tricolor L.)	× × ×	?
Zwarte nachtschade (Solanum nigrum L.)	×	× × ×
Moerasdroogbloem (Gnaphalium uliginosum L.)	—	× ×
Knopkruid (Galinsoga parviflora Gav.)	—	×
Klein kruiskruid (Senecio vulgaris L.)	—	× × ×
Straatgras (Poa annua L.)	× × ×	—

— = ongevoelig.
× × × = zeer gevoelig.

Of dit ook voor DCP (Na-zout van 2,2-dichloor-propionzuur) zal gelden, lijkt ons niet aannemelijk. Bij een gelijktijdige bespuiting van DNC + DCP ontstond bij drie rassen een zeer grote beschadiging aan de planten.

Ten slotte willen wij er nog de nadruk op leggen, dat diverse factoren invloed kunnen uitoefenen op de resistentie van het gewas tegen onkruidbestrijdingsmiddelen. Dit geldt vooral voor de „pre-emergence"-bespuitingen in maart.

Enige factoren zijn :

1. De weergesteldheid in de winter voorafgaande aan de bespuiting.
2. De weergesteldheid na de bespuiting.
3. De ouderdom van het gewas.
4. De gezondheid van het gewas.
5. Verschil in gevoeligheid tussen de diverse rassen.
6. De aard van de grondsoort.

De in een zeker jaar bij een bepaald ras verkregen resultaten zullen dan ook niet gegeneraliseerd mogen worden, daar de omstandigheden waaronder in de diverse jaren aardbeien geteeld worden zeer sterk kunnen uiteenlopen. Deze omstandigheid maakt de chemische onkruidbestrijding in de aardbeiteelt tot een gebied van onderzoek, waarbij, mede gezien het karakter van de ons ter beschikking staande bestrijdingsmiddelen, in het belang van de praktijk een zekere terughoudendheid wat betreft de toepassing van onderzoekresultaten gewenst is.

III. Het effect op de onkruiden

1. Contactmiddelen

Behalve grassen en rozetten van kamille (Matricaria sps.) worden met DNC en PCP-olie overwinterde onkruiden goed bestreden bij een toepassing van 800-1000 l vloeistof/ha.

Muur (Stellaria media), akkerviooltje (Viola tricolor) en witte krodde (Thlaspi arvense) reageren gunstig bij voor de bespuitingen gunstige weersomstandigheden. Straatgras (Poa annua) en kamille kunnen met Shell AD en VBC bestreden worden, doch zoals vermeld is verdraagt het gewas deze middelen niet.

2. Middelen met nawerking

De toepassing van deze middelen werd in het algemeen steeds uitgevoerd op onkruidvrije grond, eventueel dus na een grondbewerking. Het is ons namelijk herhaaldelijk gebleken, dat voor C-IPC, IPC en EH_1 gevoelige onkruiden veel beter bestreden werden vóórdat de planten in het kiembladstadium zijn gekomen dan daarna.

Het is bij een herfsttoepassing wel mogelijk gebleken grote pollen muur met IPC 5 kg/ha en C-IPC 2 kg/ha te bestrijden. In het voorjaar kunnen dergelijke resultaten ook bereikt worden, doch in de zomermaanden blijken grote muurplanten een veel grotere resistentie te bezitten en wordt meestal een lichte groeiremming waargenomen.

De carbamaten C-IPC en IPC bestrijden bij een toepassing op onkruidvrije grond een groot aantal belangrijke onkruiden gedurende 4-8 weken. EH_1 (SES) blijkt een andere groep onkruiden te bestrijden dan de carbamaten. De carbamaten en EH_1 (SES) vullen dus elkaar goed aan (tabel 4).

De carbamaten en EH_1 (SES) gaven tot dusver op alle bij het onderzoek betrokken grondsoorten goede resultaten. Zoals reeds werd opgemerkt, bleek de werking van de carbamaten in de herfst en in het voorjaar langer aan te houden dan in de zomer. Dit zou in verband kunnen staan met een sterkere afbraak onder invloed van een actiever bacterieleven en een snellere vervluchtiging ten gevolge van een hogere temperatuur.

EH_1 (SES) wordt reeds bij lage voorjaarstemperaturen in de grond omgezet tot 2,4-D. Kieming van kruiskruid (Senecio vulgaris) en kleine brandnetel (Urtica urens) werd in april tegengegaan. Op een te droge grond verloopt de omzetting langzaam. Veel regen beïnvloedt de werking nadelig.

Over de middelen CMU, DCMU (diuron) en Simazin kan nog het volgende opgemerkt worden.

CMU 0.8 kg/ha kan voldoende lange nawerking geven, 0.4 kg/ha geeft dit niet. Door veel neerslag wordt de werkingsduur aanmerkelijk bekort; het middel wordt dan vermoedelijk door een te grote oplosbaarheid uitgespoeld.

DCMU (diuron) dat in veel mindere mate oplosbaar is dan CMU, heeft bij $\frac{3}{4}$ kg/ha reeds te veel schade aan de aardbeien gegeven. De oorzaak hiervan zou kunnen zijn een hogere relatieve toxiciteit van dit produkt t.o.v. die van CMU.

Simazin $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ kg/ha heeft in 1956 een heel goede werking te zien gegeven tegen alle eenjarige onkruiden. Veel regen na de toepassing beïnvloedde de werkingsduur op diverse grondsoorten niet.

3. Toepassingen, waarbij contactmiddelen en middelen met nawerking tegelijkertijd worden toegediend

Gecombineerde toepassingen van DNC of PCP-olie en C-IPC geven een sneller effect op het onkruid dan wanneer geen C-IPC werd toegevoegd. Bij een behandeling van een dichte onkruidbegroeiing van bv. muur (Stellaria media), die door DNC of PCP-olie bestreden kan worden, komt er uiteindelijk toch voldoende C-IPC, IPC en EH_1 in de grond terecht om de voor deze middelen gevoelige onkruiden gedurende 4-8 weken te bestrijden.

SAMENVATTING

Bij Jucunda aardbeien kan met herhaalde toepassingen van IPC, C-IPC, EH_1 en 2,4-D kort na het planten in het voorjaar de kieming of de groei van onkruiden gedurende verscheidene weken voorkomen worden zonder dat het gewas hiervan nadelen behoeft te ondervinden.

Vóór het uitlopen van het gewas in het voorjaar kan bij Jucunda met DNC of PCP-olie en C-IPC een goede onkruidbestrijding worden verkregen. Bij andere vroegere rassen is de kans op schade aan het gewas voor dergelijke toepassingen te groot.

DCP veroorzaakte in proeven een zeer ernstige beschadiging bij diverse rassen.

Naar eventuele toepassingsmogelijkheden van EH_1, CMU, DCMU (diuron) en Simazin is verder onderzoek gaande.

RÉSUMÉ

Destruction de mauvaises herbes dans les fraisières

Parmi les cultures horticoles aux Pays-Bas, les fraises occupent une place importante (4350 ha en 1956).

Quelques problèmes concernant la destruction des mauvaises herbes dans les fraisières seront discutés.

1° Désherbage au printemps et en été sur des fraisiers plantés au printemps. Des essais furent effectués avec l'IPC, CIPC SES et 2-4 D.

2° Désherbage avant l'apparition de nouvelles feuilles au début du printemps et ceci dans un double but : destruction de mauvaises herbes ayant passé l'hiver et prévention de la germination des semences.

Pour la destruction des mauvaises herbes ayant survécu l'hiver le DNOC, le carbolineum, des huiles herbicides totales et des huiles pré-emergence fortifiées au PCP ont été essayés.

IPC, CIPC, EH_1 (SES), des dérivés de l'urée et Simazin ont été employés dans des essais de prévention de la germination des semences de mauvaises herbes sans nuire ni à la production, ni à la qualité.

SUMMARY

Experiences with weed-control experiments in strawberries

Among horticultural crops in the Netherlands strawberries take an important place. In 1956 4350 ha were occupied by this crop.

Some problems in weed-control in strawberries will be discussed.

The discussion will deal with :

1° weed-control in spring and summer in spring-planted strawberries. Experiments were carried out with IPC, Chloro-IPC, SES and 2,4-D.

2° weed-control prior to the emergence of new leaves in early spring. The purpose of this measure is two-fold : removal of weeds surviving winter conditions and prevention of weed-germination during spring. For the control of overwintering weeds experiments were carried out with DNOC, tar oil, general weed-killing oils and pre-emergence oils fortified by PCP.

IPC, Chloro-IPC, SES, substitued urea products and simazin are investigated aiming at prevention of establishment of new weeds without adverse effects on productivity and quality of the crop.

ZUSAMMENFASSUNG

Erfahrungen mit unkrautbekämfungsversuchen in Erdbeeren

Die Erdbeeren sind sehr wichtig im holländischen Gartenbau (4350 ha in 1956).

Einige Probleme der Unkrautbekämpfung in diesem Gewächs werden besprochen.

1° Die Unkrautbekämpfung im Frühling und im Sommer auf im Frühjahr gepflanzte Erdbeeren mit IPC, CIPC, EH_1 (SES) und 2,4-D.

2° Die Unkrautbekämpfung kurz vor dem Ausschlagen des Gewächses im Frühling.

a) Tötung überwinternden Unkräuter mit DNC, VBC, allestötende Olen und pre-emergence PCP-Präparate.

b) Bekämpfung keimender Unkrautsamen ohne dem Ertrag und der Qualität des Gewächses zu schaden. Dazu wurden IPC, CIPC, EH_1 (SES), substituierte Ureumderivate und Simazin geprüft.

Ing. L. Detroux, Gembloux

V : Les rendements obtenus dans les parcelles traitées ont ils été comparés aux parcelles témoins sarclées (dans mauvaises herbes) ou aux parcelles témoins non sarclées (avec mauvaise herbes)?

A : De opbrengst van met herbiciden behandelde velden werd vergeleken met gewiede percelen. Ter bestudering van de onkruidvegetatie werden ook tijdelijk niet gewiede velden in de proeven opgenomen.

HET ONKRUIDBESTRIJDINGSONDERZOEK IN BOOMKWEKERIJGEWASSEN IN NEDERLAND

door

W. van der Zweep (Wageningen) en
A. J. van der Graaf (Boskoop)

I. Organisatie van het onderzoek

Sedert 1947 wordt op het Proefstation voor de Boomkwekerij te Boskoop onderzoek verricht over de toepassing van chemische onkruidbestrijdingsmiddelen in boomkwekerijgewassen. Naast buitenlandse resultaten op bedoeld terrein hebben deze onderzoekingen de basis gelegd voor een sedert 1954 lopend uitgebreider onderzoek, dat in samenwerking tussen het Proefstation te Boskoop, de Werkgroep Onkruidbestrijding T.N.O. en het Instituut voor Biologisch en Scheikundig Onderzoek van Landbouwgewassen (I.B.S.) te Wageningen wordt uitgevoerd. Van ervaringen van de Plantenziektenkundige Dienst, het Staatsbosbeheer, het Bosbouwproefstation T.N.O. en enige Rijkstuinbouwconsulentschappen kon een dankbaar gebruik worden gemaakt.

Aangezien de onderzoekingen nog niet afgesloten zijn, zal thans slechts een overzicht van enkele ervaringen worden gegeven. In een latere publikatie zullen alle gegevens behandeld worden in het licht van een uitgebreidere bestudering van bij de toepassingen betrokken factoren.

II. Ervaringen bij het onderzoek

Aanvankelijk werd het onderzoek grotendeels geconcentreerd op onkruidbestrijdingsproeven bij de teelt van grotere planten en laanbomen en bij de kwekerij van jonge, fijnere artikelen. Gebleken is, dat in vele gevallen een toepassing van DNC (4 kg act. st./ha) en IPC (3,5 kg act. st./ha) een zeer effectieve onkruidbestrijding kan geven. De middelen kunnen gemengd in een spuitvloeistof worden toegediend, terwijl IPC eventueel door C-IPC (2,0 kg act. st./ha) kan worden vervangen.

Met bovengenoemd mengsel zijn speciaal bij najaarstoepassing opvallende resultaten bereikt. Na een toepassing in oktober of november kan men tot in april onkruidvrij blijven en behoeft in het drukke voorjaarsseizoen een sterke vervuiling van het bedrijf niet gevreesd te worden. Eventueel kan een aanvullende voorjaars-

behandeling plaatsvinden, waarbij alleen (C-)IPC gebruikt wordt, wanneer nog geen onkruiden aanwezig zijn.

In het algemeen kan men zeggen, dat contact van de spuitvloeistof met groene plantendelen zoveel mogelijk vermeden moet worden. Indien gewenst kan men de spuitkegel door middel van een afschermkap geheel onder de bladeren van het gewas op de onkruiden en grond richten. In het vroege voorjaar is het echter in verschillende gevallen mogelijk gebleken de bespuiting over nog niet uitgelopen planten uit te voeren, zonder de latere ontwikkeling van de gewassen nadelig te beïnvloeden. Enkele groenblijvende gewassen (bijv. Buxus, Hedera) blijken geen nadelige invloeden van bladbespuitingen te ondergaan, terwijl ook bij verschillende coniferen (Thuja occidentalis, Taxus, Chamaecyparis) een grote resistentie geconstateerd is. Over het algemeen werden echter de goudbonte Chamaecyparis-vormen gevoeliger bevonden dan de normaal groene variëteiten, terwijl Pseudotsuga zeer gevoelig is gebleken.

Bij najaarstoepassingen is een zeer lange nawerking van de bespuiting geconstateerd. Onder voorjaars- en zomeromstandigheden kan een uitwerking van ongeveer 2 maanden aangenomen worden.

Enkele in het voorjaar kiemende onkruiden blijken een zekere resistentie tegen IPC en C-IPC te bezitten, o.a. Chenopodium-soorten, Gnaphalium uliginosum en Galinsoga parviflora. In proeven werd daarom aandacht besteed aan het middel EH_1 (SES), dat ook de ontwikkeling van spruiten van Cirsium arvense en Tussilago farfara aanzienlijk kan remmen. Hoewel met dit produkt goede ervaringen werden opgedaan bij enige boomsoorten, bleek de els (2-3-jarige bomen) sterk met groeistofsymptomen te reageren op de toepassingen van ça. 3,5 kg act. st./ha.

In andere gevallen werd in plaats van met DNC gewerkt met een emulgeerbare 10% oplossing in olie van pentachloorphenol (30-40 l produkt per ha). Dit produkt werd steeds onder het gewas toegediend met zeer goede resultaten tegen kiemplanten van onkruiden. Met bijmenging van C-IPC kon tegen vele onkruiden een langduriger bestrijdingseffect verkregen worden.

In de praktijk worden in enkele gevallen algemeen dodende oliën (type Shell AD) tegen graspollen en ander groot onkruid gebruikt. Groene plantendelen worden dan tegen contact met de spuitvloeistof beschermd. De hoge kosten aan een dergelijke toepassing verbonden en de korte nawerking ervan maken o.i. in de boomkwekerij het gebruik van dit type oliën alleen in noodgevallen toelaatbaar.

Bij de teelt van pioenen is ook met goed resultaat een gemengde toepassing van DNC en (C-)IPC onderzocht. Vooral najaarstoepassingen voldoen goed. Ook andere contact-middelen dan

DNC, bijv. PCP-oliën, kunnen benut worden. Eventueel kan ook in het voorjaar vóór het opkomen van de pioenen met deze middelen gespoten worden, maar najaarstoepassing verdient verre de voorkeur.

Ten slotte is de DNC-IPC-menging ook toepasbaar gebleken bij winterstek. Bij verschillende soorten stek, bijv. rozen- en heesterstek, zijn gunstige ervaringen opgedaan met bespuitingen vóór het steken, doch ook bespuitingen over het reeds in de grond gestoken gewas zijn mogelijk, mits zich nog geen blad gevormd heeft. Na zachte winters levert dit uiteraard moeilijkheden op. In dit geval kan soms met succes van de reeds genoemde afschermkap gebruik gemaakt worden.

De grootste behoefte aan vereenvoudiging bij de onkruidbestrijding is aanwezig bij de zaaierij. Gezien de relatief geringe resistentie van de meeste kiemplanten tegen diverse ongunstige invloeden is er bij het onderzoek in de eerste plaats naar gestreefd enkele voor gevoelige land- en tuinbouwgewassen bekende pre-emergence onkruidbestrijdingsmethoden op hun bruikbaarheid voor de boomkwekerij te toetsen. Pre-emergence bespuitingen als zodanig zijn in de praktijk bij de zaaierij niet geheel onbekend. Speciaal bij enkele in de herfst gezaaide en gedurende de wintermaanden met naalden of stro afgedekte gewassen (als douglas-spar) wordt door sommige telers in het voorjaar na het verwijderen van het dek en uiterlijk bij het doorbreken van de eerste kiemplanten 700-1000 l/ha lichte aromatische olie (wortelolie, type Shell W) met zeer goed resultaat toegepast. De hoge kosten van een dergelijke toepassing zijn geen bezwaar, aangezien het werk snel kan gebeuren in een zeer arbeidsintensieve tijdsperiode. Bovendien wordt een keer handwieden uitgespaard.

In proeven in verschillende boomsoorten werden PCP-oliën voor pre-emergence gebruik onderzocht. Deze produkten hebben vermoedelijk een sterkere dieptewerking in de bodem en zeker een langere nawerking dan de zeer vluchtige minerale oliën en moeten daarom voor ieder gewas afzonderlijk op hun bruikbaarheid onderzocht worden. Hoewel wij de indruk hebben, dat in verschillende gewassen (Pseudotsuga, Pinus sp. div., Acer campestre, Sorbus aucuparia, Prunus sp. div.) het gebruik van PCP-oliën op de basis van 30-40 l 10%-ig produkt per ha mogelijk zal zijn, achten wij verder onderzoek nog noodzakelijk.

Het gebruik van DNC als pre-emergence middel is in sommige gewassen (Acer campestre, Sorbus aucuparia, Prunus serotina) zonder schade mogelijk gebleken. Echter moet nog worden nagegaan of de weersomstandigheden (in casu regenval voor en na de bespuiting) het effect van het middel op het gewas beïnvloedt. In principe is DNC een veel minder ,,veilig'' pre-emergence middel dan een PCP-olie of de worteloliën.

Ondanks de hoge kosten aan de toepassing verbonden achten wij op het ogenblik de lichte aromatische oliën nog de meest gewenste pre-emergence onkruidbestrijdingsmiddelen voor zaaibedden in de boomkwekerij. De produkten zijn, mits op het juiste moment toegepast, veilig voor het gewas en hebben t.o.v. de andere genoemde middelen het voordeel dat ook eenjarige grassen goed bestreden worden.

Aangezien de nawerking van door contactverbranding werkende herbiciden in het algemeen gering is, zijn bij het onderzoek ook middelen met residuwerking betrokken, nl. IPC, C-IPC en EH_1 (SES).

De mogelijkheid tot toepassing van deze en soortgelijke produkten is gebaseerd op een zekere fysiologische ongevoeligheid van het geteelde gewas en/of op de minder oppervlakkige ontwikkeling van het wortelstelsel. Door het afdekken van vele zaaibedden met een laagje zand kiemen veel houtige gewassen op enige centimeters diepte (eik, beuk, Pseudotsuga etc.). Andere soorten worden echter juist zeer oppervlakkig gezaaid (els, berk, Chamaecyparis).

Bij gelijktijdige pre-emergence toepassing van 30 l 10%-ige PCP-olie en 2 kg act. st. C-IPC per ha hebben wij zowel in 1955 als 1956 bij Pseudotsuga een zeer goede en langdurige onkruidbestrijding verkregen. Aanvankelijk kunnen lichte groeiremmingen bij het gewas optreden, doch later in het seizoen is op de behandelde objecten geen achterstand meer waar te nemen. Ook bij andere boomsoorten (Prunus serotina, Acer campestre, Sorbus aucuparia, Amelanchier) hebben wij met genoemde menging goede ervaringen opgedaan. Aangezien wij echter nog onvoldoende ingelicht zijn over de invloed van weersomstandigheden op de reactie van het gewas op de toegepaste bestrijdingsmiddelen, is een aanbeveling voor de praktijk nog niet gerechtvaardigd. Ook in het koude en bij tijden zeer vochtige voorjaar van 1957 zien we bij alle bij het onderzoek betrokken boomsoorten lichte groeiremmingen. Toevoeging van EH_1 (SES) (ca. 3 kg act. st./ha) kan het effect van de pre-emergence behandeling tegen sommige onkruiden (Gnaphalium uliginosum, Senecio vulgaris) verbeteren, zonder dat schade aan het gewas behoeft te worden waargenomen. Ook hier is echter nog verder onderzoek vereist, aangezien het middel goed in water oplosbaar is en de weersomstandigheden de diepte van inwerking kunnen bepalen.

Bij de teelt van Pinus silvestris is in het buitenland op verschillende plaatsen de behandeling met lichte aromatische olie een normale bedrijfsmaatregel. Deze toepassing in het gewas achten wij alleen in het zgn. ,,hoedjesstadium'', waarin de testa de kiemlobben nog bijeenhoudt, aan te bevelen. In andere stadia kunnen groeiremmingen optreden. Voor een goede onkruiddoding is minstens 750 l produkt/ha nodig. Voor Pinus nigra var. corsicana en var.

austriaca is de bedoelde olie-bespuiting ook mogelijk in het testa-stadium, doch ook hier hebben wij voor andere groeistadia nog onvoldoende inzicht in het verband tussen groeistadium en resistentie t.o.v. het bestrijdingsmiddel.

In verspeend tweede jaars gewas kan speciaal voor het uitlopen in het voorjaar met de lichte aromatische oliën bij Pinus silvestris goed gewerkt worden. Ook bij Picea excelsa is deze toepassing mogelijk.

Wanneer we het zeer grote sortiment en de hoge kostprijs van de gezaaide gewassen in aanmerking nemen, kunnen we uit het bovenstaande concluderen dat nog veel onderzoek nodig zal zijn alvorens door een voldoende inzicht in de resistentie van gezaaide en verspeende gewassen tegen diverse herbiciden een aanbeveling voor practici voldoende gerechtvaardigd zal zijn.

SUMMARY

Weed-control research in nursery stock in the Netherlands

Intensive weed-control is a prerequisite for good growth of nursery stock. The simplification of mechanical weed-control methods by the use of herbicides encounters several difficulties.

Methods developed for a specific crop in most cases have to be investigated in a great variety of other species.

In cultures of shade-trees a mixture of DNOC and IPC can be applied, in particular in autumn. According to data obtained at the Experimental Station at Boskoop also in some low non-leafshedding species the same mixture can be applied.

Plant beds for cuttings can be treated with DNOC and IPC prior to placing the cuttings or after placing in case no leaves are present. In all cases mentioned the active dosage of DNOC is 4 kgs/ha and of IPC 3,5 kgs/ha. In stead of IPC Chloro-IPC may also be used (2-2,5 kgs/ha).

On seed-beds in several crops light mineral oils (carrot oils) are used as pre-emergence sprays. The use of oils fortified by pentachloro-phenol is under investigation. In some crops good results were obtained with pre-emergence applications of Chloro-IPC, mixed with a pentachlorophenol-oil. SES (Exp. Herbicide I) is under investigation for the control of weeds that cannot be controled by Chloro-IPC.

The use of light aromatic oils in one and two year old plants is investigated in coniferous species. In hardwood species good results were obtained with DNOC-Chloro-IPC mixtures prior to resprouting and with stem-base treatments with Chloro-IPC and penta-chloro-phenol oils later in the season.

ZUSAMMENFASSUNG

Unkrautbekämpfung in Niederländischen Baumschulen

In Baumschulen werden die Unkräuter intensiv bekämpft. Eine Vereinfachung der mechanische Bekämpfungsmethoden durch Anwendung von Herbiziden ergibt verschiedene Schwierigkeiten. So musz jedes Produkt auf jede Sorte des sehr groszes Sortiment geprüft werden.

In der Schattenbäumenkultur sind mit DNC — IPC-Mischungen gute Resultate erreicht in Herbstbehandlungen. Nach Angaben des Versuchstations Boskoop kann dieselbe Mischung auch auf niedrigwachsenden immergrünen Pflanzen angewendet werden. Stecklingsbette können mit DNC und IPC behandelt werden, bevor die Stecklinge eingebracht werden oder auch später, aber die Stecklinge durfen keine Blätter haben. Man gebraucht in all diesen Fällen 4 kg/ha DNC, 3,5 kg/ha IPC (2-2,5 kg/ha CIPC).

In Saatbeete verschiedener Gewächse werden leichte Mineral öle in pre-emergence Spritzungen angewendet. Die Anwendung von Öl-PCP-Mischungen wird untersucht. In manche Gewächse erreichte man gute Resultate durch ,,pre-emergence'' Anwendung von CIPC mit PCP-Öle gemischt. SES (Exp. Herbicide I) wird geprüft für die Bekämpfung CIPC-resistenter Unkräuter.

Die Anwendung von leichten aromatischen Ölen in ein- und zweijährige Koniferen wird untersucht. Bei Laubbäumen wurden gute Resultate erreicht mit DNC — CIPC-Mischungen und IPC-PCP Öle.

VOORLOPIGE RESULTATEN VAN DE PROEVEN BETREFFENDE TOEPASSING VAN EEN 5-TAL TYPEN VAN HERBICIDEN IN VEZELVLAS IN 1956

door

J. C. Friederich

Inleiding

Het onderzoek betreffende de mogelijkheden van toepassing van chemische onkruidbestrijding in land-, tuin- en bosbouw is in Nederland samengebracht in de Werkgroep Onkruidbestrijding T. N. O., als overkoepelende organisatie. In deze Werkgroep wordt het onderzoek gecoördineerd, waardoor duplicering van bepaalde onderzoekingen wordt voorkomen, terwijl men regelmatig van de bereikte resultaten van elke onderzoeker kennis kan nemen en hierover van gedachten kan wisselen.

Het onderzoek betreffende de onkruidbestrijding met behulp van chemische middelen in vlas staat onder leiding van het Ned. Vlasinstituut te Wageningen. Wat betreft het spuittechnische gedeelte geschiedt dit in samenwerking met het Instituut voor Landbouwtechniek en Rationalisatie (I. L. R.), wat betreft de toepassing van bepaalde herbiciden in samenwerking met de Plantenziektenkundige Dienst (P. D.) en het Instituut voor Biologisch en Scheikundig Onderzoek (I. B. S.).

Bij het aanleggen van de proeven wordt jaarlijks veel medewerking ondervonden van de Rijkslandbouwvoorlichtingsdienst en van de Verenigingen voor Bedrijfsvoorlichting. Met ingang van dit jaar wordt bij deze proeven ook in internationaal verband samengewerkt met de officiële instanties in België, Frankrijk en Oostenrijk.

Het onderzoek in 1956

Het weer kenmerkte zich in 1956 door een koud, droog voorjaar met overvloedige regenval tijdens de afrijping en de oogst van het gewas.

De effectieve werking van de diverse, in de proeven, opgenomen herbiciden kwam daardoor minder tot zijn recht dan in andere jaren, terwijl de ongunstige weersomstandigheden tijdens de afrij-

ping de resultaten betreffende opbrengst en kwaliteit ongunstig beinvloed hebben en minder betrouwbaar maakten.

Met deze factoren dient men bij de beoordeling van de hierna te bespreken resultaten en het trekken van conclusies wel degelijk rekening te houden. Uit de resultaten van eigen onderzoekingen en die van andere onderzoekers (Aukema, Blackman, Rataj, Strijckers, Zienkiewics en Zonderwijk) kan thans wel met zekerheid worden vastgesteld, dat het gunstigste tijdstip voor een behandeling met herbiciden voor vezelvlas ligt bij een gewaslengte, die, afhankelijk van de omstandigheden, waaronder het gewas zich ontwikkeld heeft, varieert van 5-15 cm. Dit geldt zowel voor toepassing van kleur- als van groeistoffen.

Naast de lengte van het gewas zijn nog de volgende factoren van invloed op het resultaat van een bespuiting, te weten :

a. Groeiomstandigheden bepaald door milieu factoren als grondsoort, voorvrucht, vruchtbaarheid, structuurtoestand van het zaaibed, weersverloop, ziekten en plagen.

b. De botanische samenstelling van het onkruidsortiment en de ouderdom van de onkruiden.

c. Het weersverloop vóór, tijdens en na het spuiten (windsnelheid, temperatuur, relatieve vochtigheidsgraad van de lucht en hoeveelheid neerslag).

d. De spuittechniek (waterhoeveelheid, druppelgrootte bepaald door type en grote van de spuitdoppen, spuitdruk, hoogte van de sproeiboom en de rijsnelheid).

e. Concentratie en type van het toegepaste middel.

f. Grondsoort, vlasras en tijdstip van zaaien.

Wanneer men deze indrukwekkend lange lijst van factoren bekijkt, dan is het zeker niet te verwonderen, dat de resultaten van verschillende onderzoekers elkaar ogenschijnlijk wel eens tegenspreken.

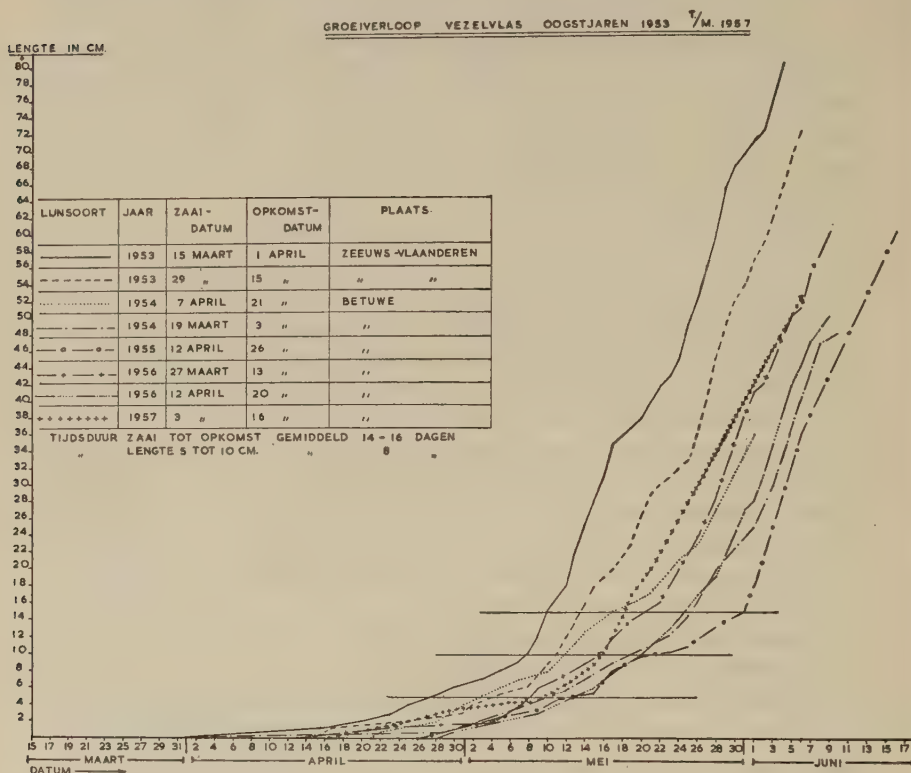
Bovendien is het duidelijk, dat voor de toepassing van chemische onkruidbestrijding in vlas geen stringente richtlijnen zijn te geven, maar dat de ervaring bij de sterk wisselende factoren, die de groeiomstandigheden van een vlasperceel bepalen en die, bij het uitvoeren van de bespuiting, een grote rol kunnen spelen, een hartig woordje meespreekt.

Zo weet elke loonspuiter langzamerhand dan ook wel, dat men bij een lang aanhoudende, droge weersperiode de concentratie kan, ja zelfs moet verhogen, om een bevredigende onderdrukking van de onkruiden te verkrijgen. Bij wisselende weersomstandigheden, vooral, indien ook de temperatuur nog aan de hoge kant is, kortom bij groeizaam weer, kan men de normaal voorgeschreven concentratie beter verlagen, wil men geen ernstige gewasschade veroorzaken.

Maar hoeveel men verhogen of verlagen moet kan alleen een grondige ervaring leren.

Groeiomstandigheden

Uit de grafiek 1. betreffende tijdsduur tussen zaaien en opkomst en het verloop van de groei, in de verschillende jaren opgenomen, blijkt het volgende :



a. Gemiddeld kan men een tijdsduur van 14-16 dagen aannemen tussen zaaien en opkomst van het gewas.

b. Tussen het tijdstip van opkomst en dat, waarbij het gewas een lengte van 5 cm heeft bereikt, liggen, afhankelijk van temperatuur en regenval, 15-30 dagen.

c. De tijdsduur, waarbij het gewas onder de meest gunstige omstandigheden verkeert voor een bespuiting, bedraagt voor een lengte tussen de 5 en 10 cm gemiddeld 8 dagen, tussen de 5 en 15 cm gemiddeld 14 dagen.

Afhankelijk van de structuurtoestand van de grond, het weersverloop en het tijdstip van zaaien kan men dus aannemen, dat 30 dagen tot 45 dagen na de uitzaai het begin-tijdstip voor een bespuiting aanbreekt.

Voor Nederland valt dit tijdstip meestal in de eerste dagen van mei en duurt tot omstreeks eind mei.

TABEL 1

Wasgehalte van vezel- en olievlas in de droge stof in %

vezelvlas	1951			1952					
lengte in cm.	datum	droge stof in %	was-gehalte in %	datum	droge stof in %	was-gehalte in %	datum	droge stof in %	was-gehalte in %
5	17/5	14,8	4,38 (nat)	25/4	11,9	7,81 (droog)	6/5	14,1	7,49 (nat)
10	23/5	13,6	4,60 (nat)	6/5	13,6	6,94 (nat)	12/5	13,3	7,56 (droog)
10	1/6	13,7	6,17 (droog)						
15	4/6	12,7	5,67 (droog)	12/5	13,3	5,73 (nat)	14/5	13,7	5,31 (droog)
20	6/6	12,3	6,51 (droog)	14/5	16,5	5,44 (droog)	16/5	14,4	6,25 (zeer droog)
25	7/6	14,3	5,64 (droog)	16/5	17,0	5,25 (droog)	23/5	19,7	6,19 (zeer droog)

Olievlas 1951

lengte in cm	datum	droge stof in %	was-gehalte in %	datum	droge stof in %	was-gehalte in %
5				29/5	11,1	6,68
10	22/5	13,2	5,82	4/6	14,8	4,88
15	31/5	12,9	6,64	11/6	17,6	5,37
20	1/6	16,3	5,37	15/6	17,3	4,36
25	4/6	16,6	4,30	18/6	18,3	4,87

1952

Zandgrond				Kleigrond							
lengte in cm	datum	droge stof in %	was-gehalte in %	lengte in cm	datum	droge stof in %	was-gehalte in %	lengte in cm	datum	droge stof in %	was-gehalte in %
5	2/5	14,4	6,16								
10	10/5	17,8	6,75	10	10/6 (nat)	14,4	7,22	15	10/6 (nat)	13,2	7,78
15	23/5	19,5	6,52	15	14/6 (nat)	12,3	7,48	20	14/6 (nat)	12,1	7,23
20	28/5	18,2	5,50	20	17/6 (droog	12,7	5,92	25	17/6 (droog	13,0	7,00
25	30/5	17,6	5,03								

TABEL 2

Wasgehalte in de droge stof in %

	Oogstjaar 1953								
lengte in cm's	Wiera			Concurrent			Daehnfeldt		
	datum	droge stof	was-gehalte	datum	droge stof	was-gehalte	datum	droge stof	was-gehalte
5	1 mei	13,3	7,7	1 mei	13,3	6,9	7 mei	13,8	5,0
10	7 mei	13,3	7,6	7 mei	13,7	6,7	18 mei	14,6	6,6
15	13 mei	15,2	6,5	18 mei	16,0	5,3	19 mei	15,6	6,9
20	18 mei	15,8	5,8	19 mei	17,3	6,0	21 mei	14,7	7,1
25	19 mei	17,7	6,6	21 mei	16,5	6,2			
30							27 mei	18,0	6,1

Reg. No Nevi 153 *oogstjaar* 1954				
Ras : Wiera 1ste *zaai* 19 *maart*			2de *zaai* 7 *april*	
datum	lengte in cm	wasgehalte	lengte in cm	wasgehalte
10/5	8	6,1 — 5,7		
12/5	8–13	6,0 — 6,5	5– 6	7,2 — 6,5
14/5	11–14	5,8 — 5,3	6– 8	7,4 — 6,7
17/5	13–18	5,9 — 6,2	8–10	6,3 — 5,6
19/5	13–19	4,7 — 5,2	8–12	5,5 — 5,0
21/5	13–22	7,2 — 6,9	10–13	6,9 — 7,1
24/5	15–28	5,8 — 6,3	12–17	5,7 — 6,0
26/5	15–32	6,2 — 5,7	12–20	7,7 — 7,5
28/5	20–40	7,4 — 5,7	15–25	6,3 — 6,3
1/6	25–50	3,6 — 4,2	20–30	5,7 — 7,3
3/6			25–35	4,4 — 5,3
5/6			30–45	4,9 — 5,1
8/6			40–55	4,8
10/6			40–57	4,8 — 5,3

Het aantal dagen, dat men voor een bespuiting ter beschikking heeft staan, is dus gering, zodat het ook om deze reden raadzaam is om direct met de bespuiting bij een lengte van 5 cm een aanvang te maken, indien althans de overige omstandigheden hiervoor gunstig zijn. Bij toepassing van kleurstoffen is het beslist noodzakelijk, dat alle vlasplantjes een lengte van minstens 5 cm bereikt hebben, omdat kortere vlasplantjes onherroepelijk door ernstige verbranding verloren gaan.

Hoe sneller en gelijkmatiger het gewas bovenkomt, hoe gezonder het doorgaans is en hoe beter het zich leent voor een bespuiting.

Uit eigen onderzoekingen (zie tabel 1 en 2) en die van Frede-

riksen (14) is gebleken, dat het wasgehalte een belangrijke rol speelt bij de meer of mindere gevoeligheid van vlas voor herbiciden.

Langdurig droog weer met lage temperaturen doet het wasgehalte stijgen, wisselvallig weer met hoge temperaturen geeft lage wasgehalten.

Het wasgehalte van de bladeren en de stengel hangt voorts samen met de groeisnelheid en neemt dan ook na 15 cm lengte, wanneer het vlas in normaal sterke groeiomstandigheden komt te verkeren, vrij snel af.

Het wasgehalte van Wiera blijkt gemiddeld iets hoger te zijn dan van Concurrent, het droge stofgehalte ligt lager. Het wasgehalte van olievlas ontloopt dat van het vezelvlas weinig. Wel ligt het wasgehalte voor olievlas op kleigrond hoger dan voor hetzelfde ras op zandgrond, hetgeen overeenstemt met de ervaring in de praktijk, wat betreft de gevoeligheid voor DNBP bevattende middelen.

Het droge stofgehalte voor olievlas ligt echter lager dan van vezelvlas, hetgeen wellicht een verklaring geeft voor de mindere gevoeligheid voor kleurstoffen in vergelijking met vezelvlas.

Volgens de onderzoekingen van Frederiksen (14) is nl. het bladoppervlak, dat in het percentage droge stof tot uiting komt, mede bepalend voor de gevoeligheid. Een welig opgegroeid gewas heeft een hoger droge stof gehalte en is gevoeliger voor herbiciden dan een normaal of armoedig opgegroeid gewas.

In het algemeen blijkt het wasgehalte een negatieve correlatie te geven met de lengte, (tabel 2) al kunnen door bijzondere groei- en weersomstandigheden afwijkingen voorkomen. Weliswaar is het wasgehalte bij zeer jonge planten (2-4 cm) eveneens hoog, maar de zaadlobben vormen hier het criterium. Deze zijn nl. door hun horizontale stand bijzonder gevoelig voor kleurstoffen en aangezien de plantjes in dit jonge stadium nog op de zaadlobben leven, leidt een verbranding van de zaadlobben tot afsterven van de plantjes.

Toepassing van kleurstoffen bij een lengte kleiner dan 5 cm moet dan ook worden afgeraden, hetgeen bij 2-wassigheid van een vlasperceel ook uit ervaring bekend is.

Bij lang aanhoudend droog weer, na de opkomst van het gewas, stijgt het wasgehalte vrij snel en geeft toepassing van kleurstoffen minder risico.

De botanische samenstelling van het onkruidsortiment

De gevoeligheid van bepaalde onkruiden voor groeistoffen en van andere voor kleurstoffen of voor beide typen van herbiciden mag bekend worden verondersteld.

Het streven om beide typen van onkruiden te kunnen bestrijden heeft geleid tot de toepassing van mengsels van MCPA + DNBP

(vlasherbicide Duphar) en van MCPA + NaDNC (het Zweedse middel K.O.C. Zienkiewicz, 17).

Volgens de eerste onderzoekingen beloven deze middelen wel perspectief. Toch vormen onkruiden als akkerwinde (Convolvulus arvensis) en zwaluwtong (Polygonum convulvulus) moeilijk te bestrijden onkruiden, die ook nog na het roten, zwingelen en hekelen in de spinnerijen veel moeilijkheden kunnen veroorzaken.

De akkerwinde is in zeer jong stadium met groeistoffen, de zwaluwtong met kleurstoffen te bestrijden.

Het weersverloop

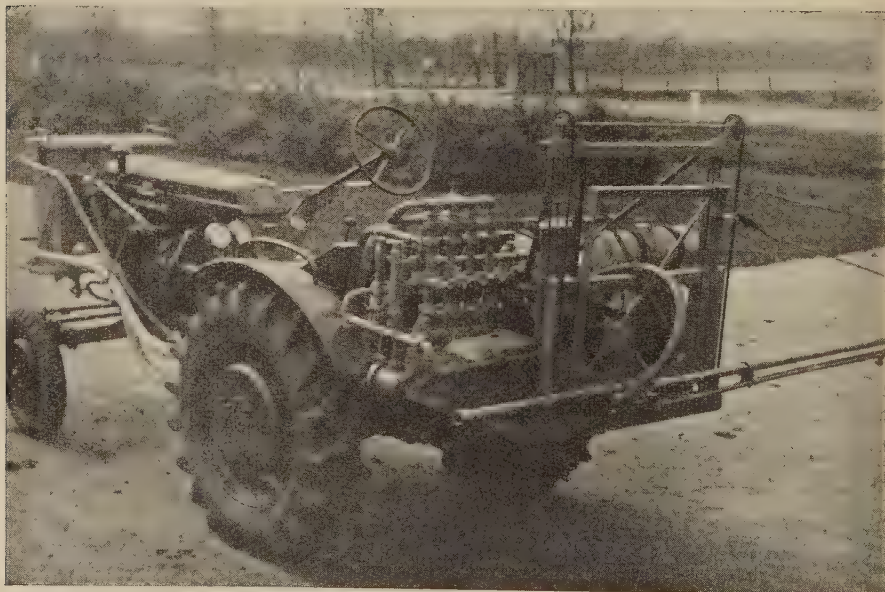
Afgezien van het feit, dat het weersverloop het groeirythme, het wasgehalte en het droge stofgehalte van het gewas bepaalt, heeft het weersverloop ook een directe invloed op het resultaat van een bespuiting.

Lage temperatuur (beneden de 15° C) of een lage relatieve luchtvochtigheid (beneden de 60%) maken de werking van groei- en kleurstoffen minder effectief.

Hoge temperaturen (boven de 20° C) en een hoge relatieve luchtvochtigheid (boven de 85%) stimuleren de werking. Dit geldt voor de kleurstoffen sterker dan voor de groeistoffen.

De spuittechniek

De proeven, in samenwerking met het I. L. R. genomen, met een hiervoor speciaal gebouwde spuitmachine (foto 1) hebben de volgende resultaten opgeleverd (tabel 3 en 4) :



TABEL 3

Invloed van de druppelgrootte en Waterhoeveelheid op lintgehalte en lintkwaliteit bij toepassing van MCPA

Nevi 186'56	Lintkwaliteit	Lintgehalte
Grote druppel 250 l	1,92^{5}	20,2
Kleine druppel 250 l	1,91^{5}	20,2
Grote druppel 500 l	1,97	21,2
Kleine druppel 500 l	1,99	21,4
Grote druppel 750 l	1,99	20,9
Kleine druppel 750 l	1,97	20,8
Grote druppel 1000 l	1,93^{5}	20,2
Kleine druppel 1000 l	1,95^{5}	21,–

Nevi 186'56	412^{5} gr. act. stof/ha		572^{5} gr. act. stof/ha		750 gr. act. stof/ha	
	lint-gehalte in %	lintkwa-liteit in gld/kg	lint-gehalte in %	lintkwa-liteit in gld/kg	lint-gehalte in %	lintkwa-liteit in gld/kg
Kl. druppel	20,9	1,95	20,9	1,95^{5}	20,7	1,97^{5}
Gr. druppel	20,7	1,95^{5}	20,6	1,96	20,6	1,95

TABEL 4

Invloed van de MCPA-concentratie en waterhoeveelheid op lintgehalte en lintkwaliteit

Nevi 182'56	250 gr. act. stof/ha		500 gr. act. stof/ha		750 gr. act. stof/ha	
	lint-gehalte in %	lintkwa-liteit in gld/kg	lint-gehalte in %	lintkwa-liteit in gld/kg	lint-gehalte in %	lintkwa-liteit in gld/kg
1ste zaai ...	22,9	2,00^{5}	22,5	1,99	22,3	1,98
2de zaai ...	22,5	1,97^{5}	22,2	1,97	22,1	1,98^{5}

183'56 250 gr		350 gr		450 gr		550 gr		650 gr		750 gr		gem.	
20,7	19,2^{5}	20,6	1,92^{5}	20,2	1,95	21,1	1,92^{5}	21,1	1,95	21,6	1,95	20,9	1,93^{5}
21,7	1,97^{5}	20,5	1,91^{5}	21,1	1,97^{5}	20,9	1,92^{5}	22,6	1,97^{5}	18,7	1,87^{5}	20,9^{5}	1,94
21,6	1,95	21,5	1,95	21,5	1,95	21,0	1,92^{5}	20,6	1,92^{5}	20,7	1,95	21,2	1,94
21,4	1.95	21,7	1,95	20,9	1,92^{5}	19,6	1,92^{5}	21,1	1,97^{5}	21,1	1,95	21,0	1,94^{5}
21,4	1,95	21,1	1,93^{5}	20,9	1,95	20,7	1,92^{5}	21,4	1,95	20,5	1,93	21,0	1,94

1. Een waterhoeveelheid kleiner dan 500 liter spuitvloeistof veroorzaakt bij toepassing van MCPA een lagere lintkwaliteit en een lager lintgehalte.
2. Tussen het gebruik van een grote en kleine druppel valt weinig verschil op te merken. Vermoedelijk zijn de verschillen in druppelgrootte niet groot genoeg geweest (Cruq, 9). Wel blijken de druppels uit Teejets spuitdoppen makkelijker samen te vloeien, dan uit Lyunet-spuitdoppen.
3. Een toenemende MCPA-concentratie blijkt, ook zelfs nog bij het ongunstige weersverloop in 1956, tot een verlaging van lintgehalte en lintkwaliteit te leiden (tabel 4).
4. Er zijn aanwijzingen, dat een latere zaai gevoeliger voor een MCPA-behandeling is, dan een vroege zaai, hetgeen vooral in het lagere lintgehalte tot uiting komt. Dit is echter ook uit de praktijk bekend, voordat er sprake was van chemische onkruidbestrijding.

De spuitvloeistof moet als een zachte regen van grove druppels op het gewas neer kunnen dalen. Dit bereikt men het beste met de wervelkamerdoppen met een z.g. W-achterplaatje en een spuitdruk van ½-2 ato. Bij gebruik van de spuitplaatjes 2.3/5.8 en 2.8/10 krijgt men een goede vloeistofverdeling (Crucq, 10).

Te hoge afstelling van de sproeiboom geeft kans op drift, al geven de spleetdoppen, die een meer gerichte straal geven, hier minder kans voor dan de wervelkamerdoppen. Te lage afstelling geeft kans op spuitbanen in het veld. Een goede gelijkmatige verdeling van de spuit-vloeistof hangt dus af van 2 factoren :

a. het type spuitdop;

b. de hoogte van de sproeiboom.

De meest gewenste rijsnelheid bedraagt 4-5 km/uur, de spuitdruk ½-2 ato.

Concentratie en type van het toegepaste middel

In de in 1956 aangelegde proeven werden de volgende typen middelen vergeleken : MCPA, DNBP, NaDNC, DNBP + MCPA en MCPB.

Uit de resultaten in tabel 5 blijkt het volgende :

1. de aanwezigheid van chloor tot een concentratie van 6000 mg Cl/liter blijkt geen nadelige invloed uit te oefenen op het resultaat van de bespuiting. Dit is van belang omdat men langs de kust en in de zeepolders meermalen met brak water te maken heeft.
2. terwijl in proef I, NaDNC en het mengsel van DNBP + MCPA het beste resultaat geven, ook t.o.v. onbehandeld, en DNBP

TABEL 5

Resultaten onkruidbestrijdingsproef van vezelvlas, oogst 1956

Proef I. Eeg. no : Nevi 180	lengte stro-vlas in cm	Opbrengst per ha in kg: gerepeld stro	Opbrengst per ha in kg: zaad	Opbrengst per ha in kg: lint	Opbrengst per ha in kg: lokken	Percentage: lint	Percentage: lokken	Lintkwaliteit in guldens	Financiele opbrengst in relatieve verh. cijfers t.o.v. onbehandeld	Opmerkingen
Objecten :										
MCPA + O mg. Cl.		4033	871	758	194	18.8	4.8	1.53^{5}	102	lengte vlas ± 8 cm
MCPA + 2500 mg. Cl.		4313	981	789	237	18.3	5.5	1.69	109	weersomstandigheden gunstig
MCPA + 6000 mg. Cl.		4072	883	741	220	18.2	5.4	1.65	100	gespoten in 1000 l water p/ha
Gemiddeld						18.4		1.66	104	Concentraties :
										MCPA 30% 1 l/ha 300 gr act. stof
										NaDNC 20% 10 kg/ha 2000 gr act. stof
										DNBP 13% 6 l/ha 720 gr. act. stof
										MCPA + DNBP 6 l/ha (vlasherbicide)
NaDNC + O mg. Cl.		4159	1005	765	220	18.4	5.3	1.71^{5}	108	
NaDNC + 2500 mg. Cl.		3742	841	718	176	19.2	4.7	1.74	103	
NaDNC + 6000 mg. Cl.		3964	909	741	190	18.7	4.8	1.67^{5}	102	
Gemiddeld						18.8		1.71	104	
DNBP + O mg. Cl.		3779	789	688	223	18.2	5.9	1.64^{5}	82	
DNBP + 2500 mg. Cl.		3861	911	710	220	18.4	5.7	1.64	96	
DNBP + 6000 mg. Cl.		3796	877	733	190	19.3	5.–	1.69	102	
Gemiddeld						18.6		1.66	93	
DNBP + MCPA + O mg. Cl.		4403	1097	832	198	18.9	4.5	1.67	114	
DNBP + MCPA + 2500 mg. Cl.		4167	1080	783	183	18.8	4.4	1.67^{5}	108	
DNBP + MCPA + 6000 mg. Cl.		4276	1056	812	175	19.–	4.1	1.70	113	
Gemiddeld						18.9		1.68	112	
Onbehandeld (wieden met de hand)		3867	852	704	182	18.2	4.7	1.73	100	
Proef II. NNH 1862										
Onbehandeld (wieden met de hand)	85	7396	866	1272	362	17.2	3.3	1.85^{5}	100	lengte vlas tijdens bespuiting 5-7 cm
5 l DNBP/1000 l	83	7127	861	1155	499	16.2	7.0	1.80	88	weersomstandigheden gunstig
2 l MCPA 18%/800 l	84	7090	961	1326	241	18.7	3.4	1.88	106	
1^{5} l MCPB/800 l	83^{5}	7002	902	1204	322	17.2	4.6	1.82	93	
2 l MCPA 18%/250 l	75	7173	874	1155	466	16.1	6.5	1.80	88	
8 kg NaDNC/1000 l	82	7367	896	1274	339	17.3	4.6	1.82^{5}	99	
1.8 l MCPA 30%/800 l	82	7392	959	1220	436	16.5	5.9	1.80^{5}	93	
5 l vlasherbicide/1000 l	83	7214	898	1154	462	16.0	6.4	1.82	89	
Proef III. WBr 2375										
Onbehandeld (wieden met de hand)	76	5880	1097	1111	212	18.9	3.6	1.75	100	lengte vlas tijdens bespuiting 5-8 cm
6 l DNBP/1000 l	76	5740	1010	1022	253	17.8	4.4	1.72	90	wisselende bewolking, droog, temp.
										13-18° C
2 l MCPA 18%/800 l	73	5522	982	988	221	17.9	4.0	1.70	86	
1^{5} l MCPB/800 l	75	5425	1174	960	239	17.7	4.4	1.69	83	
2 l MCPA 18%/250 l	75	5881	1078	1100	206	18.7	3.5	1.73	98	
8 kg NaDNC/1000 l	75^{5}	6160	1095	1078	283	17.5	4.6	1.70	94	
5 l vlasherbicide/800 l	75^{5}	6030	1076	1103	235	18.3	3.9	1.72	98	

Nederlands Vlasinstituut, Wageningen, april 1957.

het slechtste resultaat, geven in proef II MCPA in 800 liter water en in proef III MCPA in 250 liter water met vlasherbicide (MCPA + DNBP) het beste resultaat al is dit minder dan met wieden.

Hierop volgt NaDNC, terwijl MCPB en vooral DNBP duidelijk minder gunstige resultaten geven.

Hoewel een behandeling met DNBP of NaDNC kort na de bespuiting een duidelijk zichtbare, meer donkergroene kleur aan het gewas geeft, kon nog nimmer betrouwbaar een opbrengstverhoging t.o.v. onbehandeld worden vastgesteld.

Merkwaardig is het gunstige resultaat met 2 liter MCPA 18% in 250 l water in proef III, dit in tegenstelling met het duidelijk ongunstige resultaat in proef II.

T.a.v. de onkruiddodende werking kan het volgende worden opgemerkt. Pol. convolvulus blijkt door DNBP, het mengsel van MCPA + DNBP en NaDNC behoorlijk bestreden te kunnen worden, dit in tegenstelling met MCPA en met MCPB (Wain, 27),

Chenopodium album wordt daarentegen beter door MCPA en MCPB bestreden; de werking van NaDNC tegen dit onkruid is onvoldoende. De onkruiddodende werking van MCPB is in 1956 bij de toegepaste concentratie van 1.5 l van een 40% bevattend middel tegengevallen.

Bovendien werd dezelfde misvorming aangetroffen als bij MCPA. De ondervrucht (luzerne) werd echter opvallend minder beschadigd dan bij gebruik van MCPA. De proeven met dit nieuwe middel zullen nog verder moeten worden voortgezet, alvorens men over de toepassingsmogelijkheden in vlas een definitief oordeel kan uitspreken.

Opvallend was de nadelige invloed op de ondervrucht bij toepassing van MCPA in 250 l water in proef NNH 1862, ook de groeiremming bij het vlas blijkt zeer sterk te zijn, hetgeen ook in de lage lintkwaliteit en in het lintgehalte (tabel 5) tot uiting komt. In proef WB 2375 is dit minder duidelijk.

Overigens valt voor alle middelen een geringe groeiremming t.o.v. onbehandeld te constateren.

Grondsoort, vlasras en tijdstip van zaaien

De meer lichte zavelgronden blijken in de praktijk duidelijk een iets sterkere reactie bij gebruik van kleurstoffen te vertonen dan de meer zware kleigronden. Ook vochtige gronden blijken wat sterker te reageren dan de meer droge gronden.

Tussen de rassen blijken eveneens verschillen in gevoeligheid te bestaan, wat in hoofdzaak aan het verschil in bladrijkdom en in bladstand kan worden toegeschreven. Dit wordt door de onderzoekingen van Strijckers (25) bevestigd.

Aangezien een late zaaidatum doorgaans een snel groeiend en welig gewas geeft, zijn laatgezaaide percelen veelal gevoeliger voor een behandeling met chemische middelen.

Toekomstige perspectieven

Het onderzoek betreffende de spuittechniek, de invloed van het wasgehalte en het bladoppervlak dienen nog te worden voortgezet.

Wat betreft het middelenonderzoek eist MCPB een verdere beproeving in vergelijking met de thans gangbare herbiciden.

De toepassingsmogelijkheden van KOC (mengsel van MCPA + NaDNC) in vlas zijn voor Nederland nog nieuw en worden, evenals van de tri-aethanolamine-, ammonium- en natrium zouten van dinitro-iso-propyl-phenol (DNIPP) en het natrium- en tri-aethanolaminezout van DNBP (Blackman, 6 en Reynolds, 20) dit jaar in Nederland in beproeving genomen.

De internationale samenwerking met de wetenschappelijke onderzoekers in België, Frankrijk, Oostenrijk, Denemarken en Zweden, waarmede dit jaar een begin is gemaakt, kan van voordeel zijn voor alle vlastelers, die ernaar streven een kwaliteitsproduct af te leveren tegen een zo laag mogelijke kostprijs, hetgeen o.m. een factor van betekenis kan worden om de concurrentiestrijd tegen de katoen- en kunstvezel vol te kunnen houden.

SAMENVATTING

Op grond van eigen onderzoekingen en die van andere onderzoekers (Aukema, Blackman, Frederiksen, Rataj, Stryckers, Zienkiewicz en Zonderwijk) staat thans wel vast, dat het gunstigste tijdstip voor een behandeling met herbiciden voor vezelvlas ligt bij een gewaslengte, die, afhankelijk van de omstandigheden waaronder het gewas zich ontwikkeld heeft, variëert van 5-15 cm.

Afhankelijk van de structuurtoestand van de grond, het weersverloop en het tijdstip van zaaien blijkt uit de waarnemingen, dat 30 tot 45 dagen na de uitzaai doorgaans het moment van spuiten aanbreekt (grafiek 1). Gemiddeld blijken er voorts 14 dagen te verlopen tussen het tijdstip, dat het gewas van een lengte van 5 cm een lengte van 15 cm heeft bereikt.

De gevoeligheid van vezelvlas voor herbiciden is voor een groot deel afhankelijk van de dikte van de waslaag en het totale bladoppervlak (tabel 1 en 2), terwijl deze op hun beurt weer afhankelijk zijn van de groei- en weersomstandigheden (hoeveelheid

neerslag, temperatuur en luchtvochtigheid), waaronder het gewas is opgegroeid. Andere factoren die, afgezien van de weersomstandigheden voor, tijdens en na de bespuiting en de lengte en gezondheidstoestand van het gewas, van invloed zijn op de resultaten van een bespuiting, zijn de botanische samenstelling van het onkruidsortiment, de waterhoeveelheid, de druppelgrootte, de spuitdruk, de rijsnelheid, het type en de concentratie van het middel.

Pol. convolvulus en Convolvulus arvensis behoren tot de moeilijk te bestrijden onkruiden en geven ook na het roten, zwingelen en hekelen veel last in de spinnerijen.

Uit de resultaten, in tabel 3 en 4 weergegeven, blijkt, dat de waterhoeveelheid minstens 500 l water per ha moet bedragen, bij toepassing van kleurstoffen bij voorkeur 1000 liter, wil men geen nadelig effect op het gewas veroorzaken. Een te hoge concentratie veroorzaakt een daling van de lintkwaliteit en het lintgehalte.

Het onderzoek van Crucq heeft aangetoond, dat met een grove druppel (spuitopening $2\frac{1}{2}$ à $3\frac{1}{2}$mm) en een lage druk ($\frac{1}{2}$ tot 2 at.) moet worden gespoten. Hiervoor lenen zich de wervelkamerdoppen met spuitplaatjes 2.3/5.8 en 2.8/10 met een z.g. W-achterplaatje of spleetdoppen (bij sterke wind) het beste.

Aanwezigheid van chloor in de spuitvloeistof bij gebruik van brak water blijkt tot een concentratie van 6000/Cl per liter geen nadelige invloed uit te oefenen.

Van de 5-tal typen van herbiciden, die werden onderzocht geven, afhankelijk van de samenstelling van het onkruidsortiment, de MCPA-, NaDNC-bevattende middelen en mengsels van MCPA en DNBP het beste resultaat (tabel 5).

Middelen op basis van DNBP geven bij wisselende weersomstandigheden te veel risico, terwijl de MCPB-bevattende middelen, vooral wat betreft de onkruiddodende werking, in 1956, een teleurstellend resultaat gaven.

De weersomstandigheden in 1956 kenmerkten zich door een koud en droog voorjaar, waardoor de herbicide werking over het algemeen minder gunstig was dan in andere jaren.

Sinds 1957 wordt het onderzoek betreffende de mogelijkheden van toepassing van chemische onkruidbestrijding in vezelvlas ook in internationaal verband uitgevoerd.

In hoeverre de middelen op basis van dinitro-iso-propylphenol (DNIPP Reynolds & Blackman) en het mengsel van MCPA en NaDNC, dat onder de naam van K.O.C. (Froier & Zienkiewicz) in Zweden voor toepassing in vlas in de handel wordt gebracht, nieuwe perspectieven bieden, zal dit jaar worden nagegaan.

SUMMARY

Preliminary results of weedcontrol experiments with 5 kinds of Herbicides in Fibre Flax 1956

On account of own experiments and those of other research workers (Aukema, Blackman, Frederiksen, Rataj, Stryckers, Zienkiewicz and Zonderwijk) it is now established, that the most favourable stage for applying herbicides on fibre flax is the stage of development, when flax, depending on the weatherconditions during the growing time, has reached a height ranging from 2-6 inches.

The susceptibility of fibre flax for herbicides depends for an important part on the thickness of the wax cover (cuticle), while this thickness again depends on the environmental and meteorological conditions (rainfall, temperature and humidity of the air), in which the plant has grown.

Other factors which, apart from the weather conditions before, during and after spraying and the height and state of health of the flax crop, are important for the results of a spray application are, the quantity of water, droplet size, pressure and the kind and dosage of the chemicals employed.

From the results it is evident, that the water volume must be at least 500 l/ha, if coloured compounds have to be applied by preference 1000 l/ha, to prevent any damage to the flax plant.

The research done by Crucq has proved, that spraying has to be done with a big droplet (nozzle bore 2,5 — 3 mm) and a low pressure (0,5 — 2 atm.). For this purpose Lyunet-nozzles with orifice disc. 2.3/5.8 and 2.8/10 with a so-called W-back disc or Tee Jet nozzles (by heavy wind) are the best.

From the 5 kinds of herbicides, which have been tested, independant of the weed assortment, MCPA-, NaDNC-compounds and mixtures of MCPA and NaDNC have given the best results.

DNBP compounds (dinoseb) are too risky under uncertain climatic conditions, while MCPB, especially concerning weed killing effect, has given insufficient suppression of annual weeds last year.

The weatherconditions in 1956 were characterized by cold and dry weather during the spring and spraying season, which explains why the herbicides applied were less toxic thans in previous years.

Presence of chlorine in the spraying liquid by using saltish water has no detrimental effect up to a concentration of 6000 mgr/litre.

How far the 2,4-dinitro-6-ispropylphenol compounds (DNIPP, Reynolds & Blackman) and the mixture of MCPA and NaDNC (Fröier and Zienkiewicz), a swedish commercial product under the name KOC, will give better results will be investigated this year.

LITERATUUR

1. AUKEMA J. J. — Influence of weather conditions and length on reaction of flax to MCPA. Report of the proceedings of the 2nd International Flax and Hemp Research Congress, June 1956, p. 49.
2. BAKKER D. — De betekenis van de systematiek en de oecologie voor de onkruidbestrijding. *Landb. Tijdschrift* 68-1-jan. 1956, p. 78.
3. BAKKER A. A. DEN. — Bestrijding van Plantenziekten en onkruiden in de Noord-oostpolder. *Rlbc* N.O.P. Emmeloord.
4. BLACKMANN G. E., HOLLY K. and COX E. G. — Studies in selective weedcontrol IV. The control of weeds in fibre flax. *Journ. of Agr. Sc.* 41-4-'51, p. 323.
5. BLACKMAN G. E., and HOLLY, K. — Studies in selective weedcontrol V. The control of weeds in linseed by chlorinated phenoxyacetic acids. *Journal of Agr. Sc.* 44-2-'54, p. 174.
6. BLACKMAN, G. E. — The evaluation of 2:4-dinitro-6-isopropylphenol as a selective herbicide. 3rd British Weed Control Conference, Nov. 1956.
7. BOGAERDS, H. — Ervaringen met chemische onkruidbestrijdingsmiddelen in de praktijk. *Landb. Tijdschrift* 68-1-jan. 1956, p. 70.
8. BRUIN, H. P. DE en TUIN, W. — De ontwikkeling van de chemische onkruidbestrijding. Verslag van het Landbouwkundig Onderzoek in Noordelijk Groningen 1956, pag. 93-109.
9. CRUCQ, J. — De spuittechniek bij de onkruidbestrijding. *Landb. Tijdschrift* 68-1-jan. '56, p. 25.
10. CRUCQ, J. — Spuitdoppen voor onkruidbestrijding. *Landbouwmechanisatie* 7-12-dec.-'56.
11. FREDERIKSEN, P. SONNE. — The effect of DNC (sodium) and MCPA (sodium) on fibre flax in Denmark in relation to climate in the growing period. *Report* 1st. *Intern. Flax Research Congres* febr. '55, Part IV, p. 118.
12. FREDERIKSEN, P. SONNE. — Kemisk unkrudtsbekaempelse i spindhor. Ber. No. 22 Dansk Horforskningsinstitut, 1956.
13. FREDERIKSEN, P. SONNE. — Weed control with DNC (sodium) and MCPA (sodium) in fibre flax in Denmark. Proceedings of the 2nd British Weed Control Conference 1954, p. 467.
14. FREDERIKSEN, P. SONNE. — The growth of young flax plants with special vieuw to the wax formation on stems and leaves. Report of the proceedings of the 2nd international Flax and Hemp Research Congres, june 1956, p. 57.
15. FRIEDERICH, J. C. — Results of the trials with chemical weed control in fibre flax. Rep. of the 1st Int. Flax Research Congress, febr. 1955, p. 126.
16. FRIEDERICH, J. C. — De toepassing van chemische onkruidbestrijding in vlas. Bericht No. 9 van het Nederlands Vlasinstituut, April 1957.
17. FROIER, K., and ZIENKIEWICZ. — Swedish trials and experiences on chemical weed killing in fibre flax 1940-1955. *Techn. Bullet.* No. 1 en 2, juni en sept. '56, p. 27 en p. 52.
18. PETERSEN, J. F. — Verslag proefnemingen op het gebied van chemische onkruidbestrijding. Combinatie Groningen voor Rationale Bedrijfsvoering Actuele Landbouwproblemen in 1953, 1954 en 1955.
19. RATAJ KARL. — Use of 2-methyl-4-chlorophenoxy acetic Acid for destroying weeds in fibre flax. *Journ. of the Czechoslavansk Academy of Agr. Science* 4-1956.
20. REYNOLDS, J. D. — Experiments with dinitro-compounds for weed control in peas, 1954-'55. 3*rd British Weed Control Conference*, nov. '56.
21. RIEPMA, KZN, P. — De resistentie van landbouwgewassen tegen herbiciden. *Landb. Tijdschrift* 68-1-jan. '56, p. 54.
22. SHAW, W. C., GENTNER, W. A., and JANSEN, L. L. — An evaluation of several chemicals for their herbicidal properties 1956. Field Results U. S. Dept. of Agr. Plant Ind. Station, Beltsville, Maryland, jan. 1957.

23. SLAATS, M. en STRYCKERS, J. — Nat. Centrum voor Grasland en Groenvoer Onderzoek, 2de Sektie. Beknopt verslag aan het IWONL over de onderzoekingen uitgevoerd in 1954-1955. *Rijkslandbouwhogeschool, Gent*, 1956, p. 18.

24. STRYCKERS, J. — De huidige stand van zaken op het gebied van de onkruidbestrijding in België. *Landb. Tijdschrift*, 68-1-jan. '56, p. 32.

25. STRYCKERS, J. — Kursus voor sproeiondernemers. Onkruidbestrijding. *Rijkslandbouwhogeschool te Gent*, 1956.

26. STRYCKERS, J. — Chemical weed control in fibre flax. Report of the Proceedings of the 2nd Intern. Flax and Hemp Research Congress juni 1955, p. 35.

27. WAIN, R. L. — Selective weed control. Some new developments at Wye Colledge. *Proc.* of the 2nd Br. Weed Control Con. 1955, p. 311.

28. ZONDERWIJK, P. — Jaarboek Plantenziektenkundige Dienst 1954-55, p. 80.

29. ZONDERWIJK, P. — Jaarboek Plantenziektenkundige Dienst, 1955, p. 40.

30. ZONDERWIJK, P. — Onkruidbestrijding met chemische middelen. Med. No. 111 Plantenziektenkundige Dienst, 2e druk, 1954.

31. ZONDERWIJK, P.—Terugblik en perspectief bij de chemische onkruidbestrijding. Landbouw en Plantenziekten, maart 1957, No 2. *Periodiek Landbouwvoorlichtingsdienst*.

32. ZWEEP, W. V. D. — Het gebruik van chemische onkruidbestrijdingsmiddelen i.v.m. hun invloed op de plantengroei. *Landb. Tijdschrift* 68-1-jan. '56, p. 65.

Marrécan, D., Rumbeke

V : Distelbestrijding in vlas?

A : Distels in vlas, voor zoverre deze niet door een paar man met een distelsteker te verwijderen zijn, zijn als volgt te bestrijden resp. te onderdrukken.

Akkerdistel (Cirsium arvense) met 1 tot 1.5 liter MCPA 30% indien ze nog in jonge toestand verkeren en het vlas ± 5 cm lang is.

Akkermelkdistel (Sonchus arvense) met kleurstoffen en groeistoffen.

TOXICOLOGISCH ONDERZOEK VAN VERGIFTIGINGEN MET DINITRO-ORTHO-CRESOL (DNOC) MET DODELIJKE AFLOOP

door

M. Herman en A. Heyndrickx (1)

Laboratorium voor Algemene Chemie, Universiteit te Elisabethstad
Laboratorium voor Toxicologie, Universiteit te Gent

Inleiding

Dinitro-ortho-cresol (DNOC) wordt reeds gebruikt als insecticide sedert 1892, en als herbicide voor meer dan 20 jaar. De gegevens der stof op toxicologisch gebied, voornamelijk wat betreft de verdeling in het organisme, zijn echter zeer schaars. De twee acute intoxicaties met dodelijken afloop hebben ons de gelegenheid gegeven dit probleem te bestuderen en de gehalten na te gaan in de verschillende organen. We zullen hier de omstandigheden van het ongeluk en de analytische methoden bespreken.

Pharmacologie en Toxicologie

Op pharmacologisch en toxicologisch gebied kan DNOC vergeleken worden met dinitro-phenol. Dinitrophenol (1) is een activator der cellulaire oxydatie, gaande soms tot een tienvoudig zuurstof verbruik in het organisme. Steunend op deze eigenschap werd DNOC een korte tijd gebruikt bij de behandeling der zwaarlijvigheid (2). Acute vergiftigingsgevallen worden gekenmerkt door overdreven zweten en dorst, stijgende dyspnea, tachycardie, gezwollen aangezicht, hyperthermie, en coma welke na enkele uren de dood voor gevolg heeft. Zoals voor alle toxische stoffen bestaat er een grote individuele gevoeligheid ten opzichte van DNOC. De dodelijke dosis schijnt te liggen tussen 2 en 5 g.

De maximale hoeveelheid welke in de atmosfeer mag aanwezig zijn is 0,2 mg/m^3.

Als therapie past men een maagspoeling toe en het intraveneus toedienen van glucose. Ten einde de hyperthermie tegen te werken geeft men cryogenine, koude baden en ijswater om terzelfdertijd de deshydratatie tegen te werken. Verscheidene auteurs raden het

(1) Bevoegdverklaard Navorser, Nationaal Fonds voor Wetenschappelijk Onderzoek.

toedienen aan van antithyroide stoffen (methylthiouracil) andere gebruiken een zuurstoftherapie met cardiotonica.

Soms wordt, in zeer ernstige gevallen, gebruik gemaakt van de kunstmatige hibernatie. Een specifiek antidoot is niet gekend.

Omstandigheden van het ongeval

De twee ongelukken welke op verschillende tijdstippen en plaatsen voorvielen, gebeurden nagenoeg onder dezelfde omstandigheden. We zullen daarom slechts één geval beschrijven.

V. G. een landbouwwerkman, 22 jaar oud, werkte voor rekening van een landbouwer. Hij bespuit de akkers met een 0,5% waterige oplossing van DNOC. Daartoe maakt hij gebruik van een tractor voorzien van een tank welke een capaciteit heeft van 500 l. Gedurende het rijden wordt de vloeistof bij middel van een horizontale buis verdeeld. Deze is 10 m lang, bevat 26 spuitgaten, is 80 cm boven de grond gelegen, en 2,50 m vóór het stuurwiel bevestigd.

De zetel van de voerder bevindt zich 1,50 m van de grond. De tank wordt een twaalftal keren per dag gevuld. V. G. gebruikt geen masker of handschoenen. Besproeiingen worden uitgevoerd zowel wind meegaande als tegenwind.

Deze onvoorzichtigheid wordt gedeeltelijk verklaard wegens de haast, daar het een werk in aanbesteding betreft, en ook wegens de gegeven instructies niet nodeloos te rijden ten einde de kulturen te sparen.

De 16de mei 1956 vangt V. G. zijn werk aan te 5 u 45 's morgens. Hij werkt die dag minder dan vorige dagen, te wijten aan twee stoornissen in de apparatuur. Ten gevolge daarvan had hij slechts zesmaal een oplossing bereid.

Hij komt 't huis rond 21 uur, na 8 uren gewerkt te hebben. Hij schijnt normaal te zijn. Hij vertelt dat het zeer warm was geweest, en dat hij veel dorst had. Hij verklaart dat hij zeer vermoeid is, en zijn ademhaling bemoeilijkt is.

Vóór het aan tafel gaan, zoals de vorige dagen, spoelt hij oppervlakkig zijn handen en aangezicht af met koud water. Hij eet weinig : een stuk brood drie of vier glazen melk, en gaat slapen. Hij had een vijftiental dagen in dat bedrijf gewerkt.

Vergiftigingsverschijnselen

Na een half uur stelt zijn vader vast dat iets mis loopt, en gaat de kamer binnen. Zijn zoon verklaart hem dat hij niet kan slapen en dat hij daarenboven moeilijk ademhaalt. Een bijgeroepen geneesheer komt rond 22 uur 45'.

Hij vindt de jongeling in een toestand van hyperthermie. Hij schrijft hem pillen voor en geeft hem twee inspuitingen.

De ademhaling verbetert, maar de zieke geeft over. De geneesheer welke aan het ziekenbed was gebleven, ziet dat de toestand verergert, en brengt hem zelf naar het hospitaal over. V. G. komt er aan in een comateuse toestand. Hij heeft polypnea, tachycardie, zweet zeer veel en is geagiteerd; een geel speekselvocht staat op zijn lippen.

Zijn aangezicht, haar en handen, intens geel gekleurd door het DNOC, worden gewassen met alkohol zonder er evenwel in te slagen volledig de stof te verwijderen. Men geeft hem inspuitingen met atropine, coramine en vitamine C, en dient suppositoria toe met quinine. De behandeling wordt vervolledigd door het opleggen van koude vochtige doeken. Zijn toestand is zo ernstig dat een maagspoeling onmogelijk is.

Na twee uur van ononderbroken zorgen treedt een verbetering in en de temperatuur welke 41,8° C bedroeg, daalde tot 38°. Het delirium en de agitatie blijven echter voortduren, zodat een toedienen van largactil en luminal nodig blijkt. De geneesheren, enigszins gerust gesteld, verlaten hem om 4 uur 30'. Ze zijn juist vertrokken, of de zieke wordt plots angstig, tracht zich op te richten in zijn bed, en valt dood.

Toxicologisch Onderzoek

Volgens Martin (3) en Parker (4) zijn de physische eigenschappen van DNOC de volgende : smeltpunt 85,8° C, vluchtigheid : 105×10^{-6} mm Hg bij 15° C. Oplosbaar in alkalisch midden en butanone-2, de oplossing heeft een gele verkleuring. Oplosbaar in petroleumether, zonder verkleuring. Alle reductie stoffen van DNOC zijn gekleurd.

Identificaties

De meest geschikte qualitatieve reacties voor toxicologisch onderzoek, zijn de volgende :

1) Gele verkleuring van DNOC in alkalisch midden, ontkleuring in zuur midden. Gevoeligheid : 1/10.000.000.
2) Reactie van Kehrmann-Prager, gewijzigd door Mayer (2). Aan 1 ml DNOC oplossing in een proefbuis wordt wat zink poeder toegevoegd en 2 druppels ener zwavelzure oplossing aan 1/5. Na 15 min. wordt de vloeistof afgegoten en wordt 1 druppel ener kaliumbichromaat oplossing aan 1 ‰ toegevoegd. Een rose verkleuring verschijnt na één min. Gevoeligheid : 1/350.000.
3) 1 ml der DNOC oplossing wordt behandeld met zink en HCl, als opgegeven voor de Mayer-reactie. Aan de gereduceerde vloeistof wordt een druppel $FeCl_3$ 1/000 toegevoegd.
   Een rose verkleuring heeft plaats. Gevoeligheid : 1/200.000.

4) Reactie van Fischer (5). Aan een alkalische oplossing van DNOC wordt een gelijk volume alkohol 96% en wat KCN toegevoegd. Men verwarmt. Na één min. wordt de oplossing rood-purper. Gevoeligheid : 1/150.000.

Quantitatieve bepaling

Herman e. a. (6) hebben de vershillende methoden onderzocht welke tot hiertoe werden beschreven voor de toxicologische analyse van DNOC vergiftigingen. Ze hebben verder een verbeterde spectrophotometrische methode op punt gesteld, welke toelaat gehalten te bepalen welke gelegen zijn tussen 0,5 γ en 20 γ DNOC per ml.

Gebruik makend van deze techniek werden de volgende hoeveelheden teruggevonden :

Geval D. B. H.

Orgaan	Hoeveelheid ontleed in g.	Hoeveelheid DNOC in γ	Hoeveelheid DNOC in γ per g. stof
Huid (van de hand met onderliggende vetlaag)	10,1	8.500	841
Bloed	12,3	130	10,6
Urine	31,5	150,5	4,8
Haar	2,66	7.130	268
Lever	10,9	sporen	sporen
Nier	25,9	,,	,,
Hersenen	10,5	—	—
Maaginhoud	25,0	—	—

Geval V. G.

Orgaan	Hoeveelheid ontleed in g.	Hoeveelheid DNOC in γ	Hoeveelheid DNOC in γ per g. stof
Huid (voet)	10,6	60,0	5,7
Huid (van de hand zonder onderliggende vetlaag)	24,5	103,7	4,2
Bloed	11,8	100,0	8,5
Bloedige vloeistoffen in pleura holte	12,08	18,9	1,65
Lever	12,7	sporen	sporen
Nier	9,8	,,	,,
Maaginhoud	27,4	—	—

Besluit

De twee beschreven dodelijke intoxicaties waren het gevolg van onvoorzichtigheden : de twee werklieden droegen geen speciale klederen, geen handschoenen noch masker. Ze hielden geen rekening

met de richting van de wind en de elementairste regelen der hygiëne. We moeten er echter aan toevoegen dat de werkgever nooit zijn werklieden opmerkzaam had gemaakt op de grote giftigheid der stoffen en de voorzorgsmaatregelen welke dienden in acht genomen te worden. We staan hier dus terug voor vergiftigingsgevallen welke hadden kunnen vermeden worden indien de nodige kennis werd opgedaan, en controle bij het gebruik uitgevoerd. Zoals reeds meermalen medegedeeld in vroegere studies (7), hebben de landbouwingenieurs en apothekers hier een gewichtige rol te vervullen.

SAMENVATTING

De acute intoxicatie met dodelijken afloop van twee gevallen veroorzaakt door het sproeien met dinitro-ortho-cresol (DNOC) is besproken. De omstandigheden welke deze vergiftigingen teweeg brachten zijn beschreven.

De toxicologische analyse en een discussie der bepalingsmethoden is gegeven, met een algemeen overzicht der gehalten aan toxische stof in de verschillende organen.

De grote giftigheid en doordringbaarheid der stof wijzen er op dat DNOC maar kan gebruikt worden wanneer alle voorzorgsmaatregelen stipt worden nageleefd.

Zorgeloosheid en gebrek aan toezicht, welke zo dikwijls bij het gebruik van phytopharmaceutische produkten worden opgemerkt, kunnen de oorzaak zijn van zeer ernstige gevolgen.

RESUME

Etude toxicologique d'empoisonnements mortels par le dinitro-ortho-cresol (DNOC)

L'intoxication aigue et mortelle de deux cas par la pulvérisation du dinitro-ortho-cresol (DNOC) est décrite. Les circonstances qui ont entrainé ces empoisonnements sont mentionées.

L'analyse toxicologique et la discussion des methodes analytiques sont exposés; dans un tableau on compare la concentration du DNOC dans différents organes.

La toxicité élevée et le pouvoir pénétrant du poison nous démontrent que le DNOC ne peut être employé que dans les cas où toutes les mesures de précaution ont été prises.

Négligence et manque de contrôle, constatés si souvent dans l'emploi des produits phyto-pharmaceutiques, peuvent être à l'origine de conséquences très graves.

SUMMARY

Toxicology of fatal intoxications by dinitro-ortho-cresol (DNOC)

Acute and fatal intoxications of two cases, found by spraying dinitro-ortho-cresol (DNOC) are described. The circumstances related to the poisoning are mentioned.

The toxicological analysis and a discussion of the analytical methods used are given, and contains a table of the amounts of poison found in the different organs.

The high toxicity of the compound and its penetrating ability show, that DNOC can only be used if all safety measures are taken.

Negligence and a lack of control, that so often are encountered by using phyto-pharmaceuticals ,can be on the origin of very serious consequences.

LITERATUUR

1. DEROBERT, L. en HADENGUE, A. — Intoxications et Maladies Professionnelles. Paris. *Edit. Flammarion*, 1954, bl. 944.
2. FABRE, R. en TRUHAUT, R. — Toxicologie des Produits Phytopharmaceutiques. Paris 1954, bl. 169.
3. MARTIN, H. — Guide to the Chemicals used in Crop Protection. Canada. *Department of Agriculture*, 1953, bl. 106.
4. PARKER, V. H. — *Analyst*, 1949, **74**, 646.
5. FISCHER, W. — *Zeitschr. Anal. Chem.* 1938, **112**, 92.
6. HERMAN, M., THOMAS, F. en VAN HECKE, W. — *Ann. Med. Leg. franç.* 1956, **36**, 247.
7. HEYNDRICKX, A. — *Med. Landbouwhogeschool, Gent.* 1956, **21**, 497.

A. Van Den Bulcke, Brussel

V : Kunt U een bondige schets geven betreffende de kwantitatieve analyse methoden. Was het mogelijk een smeltpunt te bepalen?

A : De kwantitatieve analyse geschiedt spectrophotometrisch, steunend op de volgende eigenschappen : DNOC is oplosbaar in alkalisch midden in butanone-2 met een gele verkleuring. De kleine hoeveelheden teruggevonden in de lijkdelen, laten niet toe een smeltpunt te bepalen.

G. Verplancke, Ronse

V : Bestaat er een mogelijkheid door een dosage in het bloed het ogenblik te bepalen wanneer het werk dient stop gezet te worden?

A : De zeer kleine gehalten teruggevonden in het bloed in deze acute gevallen laten veronderstellen dat het zeer goed mogelijk is dat een persoon chronisch kan geïntoxiceerd zijn zonder dat daarom de chemische identificatie mogelijk is.

Daar DNOC een cumulatief gift is, raadt men aan dat een werkman dient op te houden in contact te zijn met het vergift, wanneer 8 uren na het laatste contact het gehalte in het bloed hoger ligt dan 20 delen per miljoen.

K. Van Asperen, Utrecht

V : De lethale dosis wordt opgegeven als 2-5 g. Wanneer ge uit uw gegevens de optelsom maakt voor de accuut vergiftigde mensen, tot welk getal komt U dan naar schatting?

A : Uit de tabellen hebt U kunnen zien dat de gehalten teruggevonden zeer klein zijn. We mogen echter niet vergeten dat de personen hebben gebraakt, wat de berekening bemoeilijkt. Ik heb de indruk dat we hier eerder de minimum hoeveelheid bereiken.

J. C. Friederich, Wageningen

V : Is natrium DNOC even giftig als het ammoniumzout van DNOC? Wat is de oorzaak dat overmatig werken, roken en drinken het vergiftigingsgevaar verhoogt? Is het dragen van een masker wettelijk verplicht in Belgie bij toepassingen van DNOC?

A : Het natriumzout is even giftig als het ammoniumzout.

Een overmatig werken vermindert de weerstand van het organisme, roken en drinken verhogen de absorptie. Beide factoren, dragen dan bij tot een verhoogd vergiftigingsgevaar.

Het dragen van een masker bij het sproeien is aangeraden, doch naar mijn weten wettelijk niet verplicht.

Natuurlijk kan bij eventuele ongevallen het niet dragen van een masker als bezwarende omstandigheid worden ingebracht.

W. van der Zweep, Wageningen

V : Welke is de giftigheid van dinitro-sec. butylphenol (DNBP) ten opzichte van DNOC?

A : Op dierproeven hebben beide stoffen nagenoeg dezelfde toxische werking. Zo veronderstel ik dat de giftigheid voor de mens insgelijks niet ver van elkaar zal afliggen. Naar mijn kennis zijn tot nog toe geen wel omschreven hoeveelheden verschenen voor wat betreft de toxische dosis DNBP voor de mens.

F. H. Feekes, Vlaardingen

V : Beveelt U tegen inademen maskerkap met aanzuigpijp aan?

A : De maskerkap is zeker niet zo afdoend werkend als het masker. Voor veiligheidsredenen dient men het masker te verkiezen, vooral wanneer het zeer giftige stoffen betreft.

V. De Wolf, Zottegem

V : Is het wenselijk dat loonsproeiers zich na 10 dagen werk regelmatig aan doktersonderzoek zouden onderwerpen?

A : Ik zou U willen verwijzen naar de juist beantwoordde vraag betreffende de dosage van het DNOC in het bloed, wat een antwoord op uw vraag kan geven.

A. Philips, Evere, Brussel

V : Bestaan er bepaalde vergiftigingssymptomen waarbij kan vastgesteld worden dat de werkman-sproeier het werk onmiddellijk moet stilzetten?

A : Bonnell en Harvey, welke een uitgebreide studie over dit probleem hebben gemaakt, wijzen er op wanneer de arbeider verkeert in een ,,fitter than usual feeling", het tijd is van werk te veranderen. Zoals we hoger hebben gezegd, kunnen naar onze mening vergiftigingsverschijnselen optreden vooraleer de chemische test een positieve uitslag oplevert.

J. Wieers, St. Truiden

V : Hoe grijpt men best in bij vergiftiging?
Ware het niet van belang het aantal arbeidsuren bij bespuiting met DNOC te beperken?

A : In geval van vergiftiging hebt U reeds gehoord dat de behandeling symptomatisch is. Er is voor DNOC thans geen antidoot bekend. Als eerste hulp past men een maagspoeling toe, reinigen van de huid en een toedienen van glucose.

Het zou geraadzaam het aantal arbeidsuren te beperken, 8 uur bijvoorbeeld, daar vermoeienis en haast, veroorzaakt door aanbestedingswerk, de oorzaak kunnen zijn van ernstige nalatigheid en gebrek aan hygiene.

DE OBLIGAAT-MYIASIS VERWEKKENDE DIPTERA VAN BELGISCH-CONGO

door

P. L. G. Benoit

(Kon. Museum van Belgisch-Congo, Tervuren)
(Instituut voor Tropische Geneeskunde, Antwerpen)

De studie der obligaat-myiasis verwekkende Diptera van Belgisch-Congo was in zijn beginstadium opgevat als het vertrekpunt van een algemene studie die het probleem zou behandelen voor gans Afrika ten Zuide van de Sahara. Toevallig evenwel bewerkte mijn uitstekende vriend en Collega F. Zumpt van het South African Institute for Medical Research te Johannesburg tegelijkertijd hetzelfde onderwerp. Het was me een waar genoegen hem het voorrecht te verlenen deze monographie te voltooien; zijn hoge competentie is een waarborg voor de perfektie van het werk.

Ik beperk me hier tot het opsommen, zonder identificatietabellen, der soorten waarvan de larven noodzakelijk leven in of op het lichaam der warmbloedigen in Belgisch-Congo.

Dank zij de rijkdom der verzamelingen van het Kon. Museum van Belgisch Congo te Tervuren en tevens dank zij de bereidwilligheid van wijlen Prof. Dr. J. Rodhain, Ere-Directeur van het Instituut voor Tropische Geneeskunde te Antwerpen was het me mogelijk niet alleen een massa niet geïdentificeerd materiaal te onderzoeken, maar tevens ongeveer al het vroeger bestudeerde en in litteratuur geciteerde materiaal terug te onderzoeken.

In de huidige stand van kennissen bestaan in Belgisch-Congo 31 soorten obligaat-myiasis verwekkende Diptera; ze verdelen zich over volgende families :

Muscidae : 1 soort
Calliphoridae : 9 soorten
Gasterophilidae : 4 soorten
Oestridae : 17 soorten

Ik heb het meer logisch geoordeeld de soorten niet in systematische volgorde (per Familie) te behandelen maar wel ze te groeperen naar gelang de larvaire biotoop in de klassieke drie groepen : cuticole, gastricole en cavicole larven.

I. Cuticole Myiasis

Neocuterebra squamosa Grünberg

De larve van deze soort leeft specifiek in de voetzool van de Olifant en ze lijkt aanwezig te zijn in het ganse verspreidingsgebied van haar waard, ten minste in West-Afrika. Op grond van onnauwkeurige waarnemingen heeft men deze larven gedurende lange jaren gelocaliseerd in het vetweefsel gelegen boven de voetzool. De eitjes worden gelegd in de kloven en spleten die in de voetzool aanwezig zijn, de jonge larven boren zich doorheen de hoornachtige zool maar localiseren zich uiteindelijk in de kraakbeenlaag die de zool scheidt van het hoger gelegen bindweefsel; ze zijn horizontaal gelegen. De volwassen larve verlaat de zool langs de galerij die ze zelf gemaakt heeft om in de grond te gaan verpoppen.

Ze is bekend uit volgende localiteiten :

Tshuapa : Moma VI, 1925 (J. Ghesquière); Lukolela IX, 1923 (J. Ghesquière).
Oostprovincie : Yangambi I, 1952 (J. Decelle) en IX, 1947 (P. L. G. Benoit).
Uele : Medje VIII, 1925 (H. Schouteden); Buta 1926 (J. Hutsebaut); Likati (J. Rodhain); Api (J. Rodhain); Gangala na Badio (J. Rodhain).
Ituri : Avakubi (Lang & Chapin).
Lomami : Mutombo-Mukabe III, 1931 (P. Quarré).
Kasai : Basongo 18, VII, 1921 (H. Schouteden).

Ruttenia loxodontis Rodhain

De larven van deze soort leven in etterbuilen die ze verwekken in de huid van de olifant; tot heden is de soort alleen bekend uit Belgisch-Congo en wel uitsluitend uit de savannestreken. Al tot op heden gevonden materiaal heb ik kunnen onderzoeken. Ze is bekend uit volgende localiteiten :

Uele : Api (Vermeersch); Gangala na Bodio (J. Rodhain); Paulis, Mboli (P. L. G. Benoit).
Lomami : rivier Luania, km 308 van de spoorweg Opper-Katanga tot Neder-Congo, Mutombo-Mukulu III, 1931 (P. Quarré).

Evenals voor vele andere Oestriden, is de levenscyclus van deze soort nog totaal onbekend. Ik mag de waarneming van Rodhain (Bull. Soc. Path. exot., XVII, 1924, p. 88) bevestigen, volgens dewelke men het larvestadium niet vindt gedurende het ganse jaar. Ruttenia-etterbuilen bestaan bij de Olifanten slechts vanaf einde september tot begin januari, dit wat Uele betreft. Het lijkt een stationnaire huidmyiasis te zijn.

Strobiloestrus antilopinus Brauer

De opzoekingen van Rodhain (Ann. Parasit. hum. & comparée, V, 1927, p. 204) hebben de synonymie bewezen van deze soort met Dermatoestrus Ericksoni Poppius. Deze soort werd door Poppius terug beschreven op volwassen larven van het 3^{e} stadium en waarvan de morphologie overigens totaal verschillend is. Deze

soort verwekt etterbuilen bij herkauwers evenals de Hypoderma-soorten het doen.

In Zuid-Afrika leeft deze soort bij de antilopen Pediotragus campestris Gray en Oreotragus saltator Zimm.

In Belgisch-Congo werd deze soort gevonden door Rodhain in etterbuilen bij Onotragus leche leche Gray in de vlakte van Katombwe en door Poppius bij Onotragus leche Smithemani Lydekker in de vallei van de Opper-Luapula.

Elders onbekend.

Cordylobia anthropophaga Blanchard

Deze soort is de causale agent der ,,pseudo-furonkels'' bij mens en dier; ze is uitgesproken polyphaag en bezit een uitgestrekte geographische verspreiding.

Ik onderzocht volgende monsters :

Neder-Congo : Boma 30-IX-1953 (Lanckriet) op dashond.
Stanleystad : Yangambi (Parent) op mens; ibidem VIII-1946 (P. L. G. Benoit) op mens : Bafwasende 5-IX-1912 (Christy) op rat Oenomys hypoxanthus (testikels); Basoko 1948 (P. L. G. Benoit) ettelijke gevallen op mens en kleine knaagdieren.
Ituri : Mongbwalu VIII-1939 (Mme A. Lepersonne) op springmuis.
Maniema : Kasongo III-1945 (J. Claessens), op huiskat, ibidem I-1957, op hond.
Kivu : Uvira 1949 (G. Marlier).
Tanganika : Albertstad 2-II-1936 (G. Hösli) op mens.
Kiambi 1-II-1911 (Valdonio) op hand.
Opper-Katanga : Elisabethstad 18-XII-1920 (M. Bequaert), op mens; ibidem 1923 (M. Bequaert), op mens; ibidem V-1934 (R. Dogot) op rat.
Lualaba : Bukama 12-III-1911 (M. Bequaert) op mens; Sankisia 10-I-1912 (M. Bequaert) op mens; Kolwezi 1-II-1953 (Mme L. Gilbert) op mens.
Sankuru : Noord-Sankuru IV-1924 (G. Ghesquière) op mens; Lusambo I-1925 (J. Ghesquière) op rat en op konijn (testikels).
Kasai : Leverstad IX-1920 (E. P. Vanderijst), op mens; Luebo 21-VIII-1921 (H. Schouteden) op rat, Rattus rattus frugivornis (testikels).

Het blijkt uit inlichtingen ingewonnen bij medici dat de Cordylobiabuilen zeer talrijk voorkomen bij inboorlingen der groot-centra : Leopoldstad, Coquilhatstad en Elisabethstad.

Bequaert en Rodhain (Rev. Zool. Bot. Afr., 2, 1912, p. 149) vermelden deze soort in Congo bij volgende andere waarden : konijn, aan testikels en aan poten, te Lukonzolwa; Felis caligata* aan poten en klauwen te Luba (Kiambi), Geit aan uier te Bukama.

Deze soort is niet min talrijk in de andere delen van Afrika ten Zuiden van de Sahara; ze wordt in de natuur klaarblijkelijk onderhouden door een reeks primaire gastheren allen kleine knaagdieren. Als secondaire gastheren vinden we in Belgisch-Congo : de mens, de hond, de kat en het konijn. Alle extra-congolese monsters die ik heb kunnen onderzoeken van deze soort waren gevonden op één van hogervermelde gastheren.

---

*Het betreft hier in feite meer dan waarschijnlijk Felis lybica Forst, de kleinste onzer wilde katten in Congo.

De eilegcapaciteit van deze soort schommelt rond de 500 eitjes, deze laatste worden gelegd per 8 tot 15 tegelijk, wat het gregair karakter der Cordylobia-zweren verklaart. De eitjes worden gelegd op met zweet bezoedeld linnen ofwel rechtstreeks op de huid bij de mens. Bij de dieren worden ze gelegd in het nest ofwel rechtstreeks op het dier, maar dan worden de karig of kort behaarde delen van het lichaam uitgekozen. De incubatie der eitjes schommelt tussen 24 en 36 uren; na deze periode boort de larve zich in de huid maar blijft steeds met de ademhalingsorganen aan de oppervlakte der huid. De larve voltrekt haar ontwikkeling op de plaats zelve waar ze zich ingeboord heeft; ze is volwassen binnen de 8 tot 9 dagen en verlaat spontaan de wonde om te gaan verpoppen in de bodem. De larve is zeer gevoelig aan directe bestraling van het zonnelicht. Het is haar absoluut onontbeerlijk zich onmiddellijk in de bodem te kunnen ingraven vermits ze vooraleer door de poppenhuid beschermd te worden, een praenymphe stadium, dat 48 u duurt, moet doorbrengen.

Dank zij het zichtbaar zijn bij het 3^e^ larve stadium der twee stigmatale platen biedt het identificeren van Cordylobia-zweren in dat stadium geen moeilijkheden. Deze platen zijn evenwel zeer moeilijk terug te vinden in het 2^e^ larve stadium en bestaan niet in het 1^e^ larvestadium. In deze laatste twee gevallen herkent men de Cordylobia-zweer aan de afwezigheid van etter en aan het periodisch uitzijpelen van een overvloedig sereus vocht; perioden die telkens overeenstemmen met de voeding der larven. De Cordylobia-zweren zijn vooral talrijk in het regenseizoen.

Cordylobia ruandae Fain

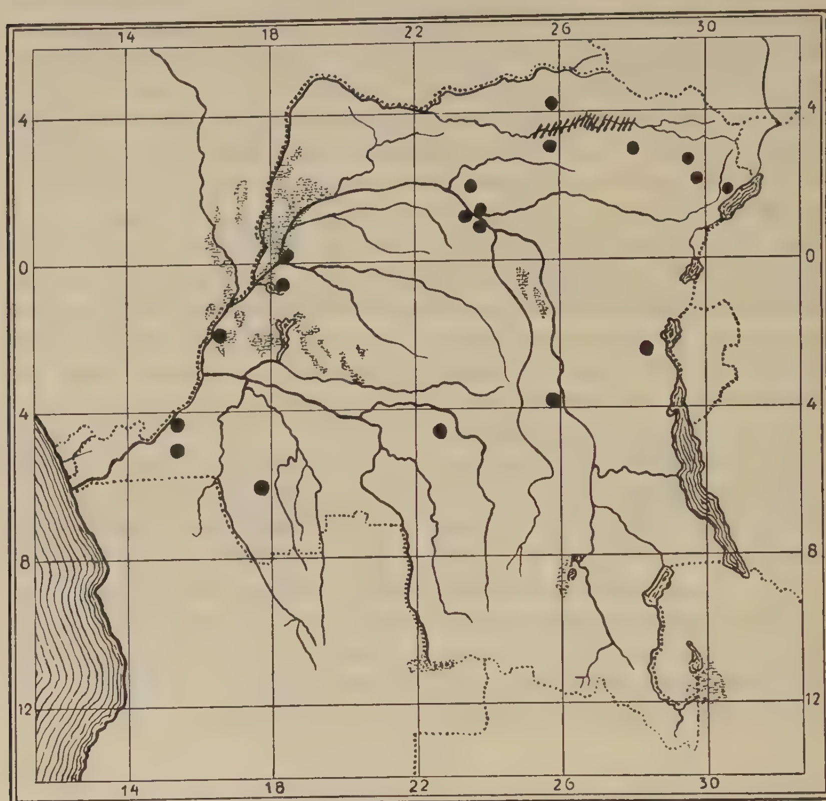
Deze onlangs beschreven soort is tot heden alleen gekend door de originele reeks gevonden als cuticole myiasis bij de rat Grammomys surdaster te Musha (Astrida) in Ruanda door de auteur zelf.

Mogelijk bestaat deze soort ook wel bij de mens, maar werd ze tot heden verward met de vorige soort.

Stasisia Rodhaini Gedoelst.

De levenscyclus van deze soort is analoog met deze van Cordylobia anthrophaga. Hier evenwel duurt het larvestadium 12 tot 15 dagen en het popstadium 22 tot 27 dagen. De volwassen larve kan 25 mm gestalte bereiken en het is klaar dat de ,,pseudofuronkels'' te wijten aan deze soort veel groter en pijnlijker zijn dan deze van Cordylobia anthropophaga. Deze soort is even gemeen als C. anthropophaga maar ze wordt in de natuur onderhouden vooral door knaagdieren en tevens door woudantilopen van het geslacht Cephalophus. Hoewel de soort in Afrika ook een

uitgestrekt verspreidingsgebied schijnt te hebben is de densiteit der populatie het hoogst in het regenwoud van W.-Afrika.



Vindplaatsen van *Stasisia Rodhaini* Gedoelst in Belgisch-Congo.

Ze werd tot heden in volgende localiteiten van Belgisch-Congo gevonden :

Neder-Congo : Mayidi (E. P. Van Eyen).
Leopoldstad : (Broden & Rodhain).
Leopold II Meer : Bolobo 21-III-1921 (H. Schouteden) op Philantomba coerulus aequatorialis.
Tshuapa: Bikoro 1-V-1922 (H. Schouteden) op Cercopithecus mona Wolfi. Coquilhatstad 10-V-1932 (H. J. Bredo).
Stanleystad : Barumbu XII-1920 (J. Ghesquière) op Philantomba coerulus aequatorialis.
Elisabetha bij Basoko (Mme Tinant).
Basoko 1948 (P. L. G. Benoit) op mens.
Uele : Woudstreek langs de Uele rivier (Rodhain & Bequaert) op Cephalophus dorsalis en C. Grimmi; op Cricetomys sp.; op Rhynchocyon Stuhlmanni.
Bambesa 30-VIII-1933 en 1-X-1934 (J. V. Leroy).
Gwane-Doruma 1932 (Bentz).
Djamba 22-XII-1924 (H. Schouteden) op Cephalophus nigrifrons.
Paulis 1947 (P. L. G. Benoit) op Cephalophus sp.
Ituri : Kilo-Moto IX-1933 (G. du Soleil).
Djugu 1930 (R. Van Caneyt) op Oenomys hypoxanthus.
Djiba (A. Fain) op Tatera dichrura.

Kivu : Kivu (Flamand) op mens.
Nyangwe 19-II-1920 (J. Ghesquière) op Philantomba coerulus aequatorialis.
Kasai : Kondue (E. Luja).
Kwango : Kwango (David) op Cercopithecus sp.

S. Rodhaini werd verder met zekerheid vermeld uit Brits Kamerun, Frans Equatoriaal Afrika (Moyen-Congo en Gabon), Angola, Goudkust, Tanganyika Territory en Zuid-Rhodesie.

Pachychaeromyia praegrandis Austen

De larven van deze soort leven niet in de huid. Ze zijn tijdelijk bloedzuigend en verblijven in de nesten van zoogdieren; bij voorkeur in de bodem gegraven nesten.

Deze soort is algemeen verspreid in Afrika, van Senegal tot Zuid-Afrika maar wordt eerder zeldzaam gevonden; ze leeft veelal bij wilde zwijnen.

De verzamelingen van het Kon. Museum van Belgisch Congo bevatten specimina herkomstig uit volgende localiteiten :

Bambili-Niangara 15/20-XI-1925 (Z. K. H. Prins Leopold).
Mahagi-Port 1935 (Ch. Scops).
Kilo, Kere-Kere 1948 (Turco).
Sankisia IX-1911 (J. Bequaert).

Ik onderzocht materiaal herkomstig uit volgende buiten Belgisch-Congo gelegen localiteiten.

Zuid-Afrika : Willowmore IV-1920 (Brauns) en Douglas (Miss. Orpen).
Nyassaland : Fort Johnston (Lamborn).
Victoria Meer : Pambani 1916, specimina gekweekt uit larven gevonden in het nest van een Phacochaerus.

Auchmeromyia luteola Fabricus

De larven van deze soort zijn gekend onder de benaming ,,Hutwormen''. Ze leven overdag normaal in de grond der hutten en komen slechts 's nachts naar de oppervlakte om het bloed van de slapende mensen te zuigen. De biologie van deze soort werd door meerdere onderzoekers op uitstekende wijze bestudeerd en heeft vooral het sterk aanpassingsvermogen der larven aan ongunstige levensomstandigheden bewezen. Ze is vooral verspreid bij deze negerstammen die normaal slapen op een raphia-matje uitgespreid op de bodem der hutten. Anderzijds is ze zeldzaam in die streken waar de inboorling de gewoonte heeft te slapen op ,,kitikwala's (inlandse bedden) uit bamboe.

Het is de larve inderdaad onmogelijk, ware het ook maar enkele centimeter boven de begane grond te klimmen.

Deze larven werden tot op heden alleen gevonden in menselijke woningen. Het lijkt, wat Belgisch Congo betreft, dat de densiteit der populaties van deze soort het hoogst is in Maniema en in Katanga. De larven worden gedurende het ganse jaar gevonden.

Auchmeromyia Bequaerti Roubaud.

De larven leven in nesten van wilde varkens (Phacochaerus) en aardvarkens (Orycteropus). Ze zijn tot heden alleen bekend uit oostelijk Congo.

Sankisia 9-IX-1911 (J. Bequaert).
Kabare VIII-1914 (J. Bequaert).

Chrysomyia bezziana Villeneuve

De larven leven zo bij mens als bij dier uitsluitend in open wonden en voeden zich in dat milieu alleen met gezonde, levende weefsels. De volwassen vlieg legt de eitjes aan de rand der wonden en tot dat doel worden tot zelfs de minste schrammen uitgebaat. Gezien de larven zich voeden met levende weefsels, worden de wonden dieper en groter gemaakt. Deze soort is één der voornaamste parasieten der schapen in Zuid-Afrika en verrechtvaardigt wel degelijk de uitgebreide onderzoekingen die met betrekking tot het ,,blowfly-probleem'' op touw gesteld werden door de Veeartsenijkundige Laboratoria van Onderstepoort in Transvaal. Bij schapen is de besmetting ernstiger dan bij andere dieren gezien de met larven besmette wonden verborgen zitten onder de dikke vacht en veel moeilijker te ontdekken zijn. Verborgen onder de wol zijn ze bovendien moeilijker te bereiken bij het gebruik van synthetische insecticiden.

De evolutie der populaties van deze zeer gevaarlijke soort moet in Belgisch Congo nauw in het oog gehouden worden; ze lijkt vooral in het Oosten talrijk te worden.

Volgende vindplaatsen zijn van Congo te vermelden :

Neder-Congo : Kitobola (Rovere) — in open wonde aan de nek bij een mens. Leopoldstad (A. Broden).
Stanleystad : Yakusu I-1927 (J. Ghesquière) in open wonde bij een mens.
Uele : Angodia 1922 (Rodhain & Bequaert) in etterende wonde aan de basis van de staart van een olifant.
Lualaba : Kaniama XI-1953 (C. S. K.) talloze specimina uit open wonden bij runderen.
Kivu : Nyabikoro (bij Rutshuru) I-1957 (K. Baeten) in open wonde aan de poot van een schaap.
Sankuru : Sangaie II-1925 (J. Ghesquière) in open wonde bij mens.

Het blijkt uit inlichtingen ingewonnen in Kivu, dat de larven van deze soort de laatste jaren aanmerkelijk talrijker geworden zijn en tevens dat het aantal kreupele dieren ten gevolge der aanvallen van deze soort betekenisvol wordt.

Lucilia cuprina Wiedeman

Ook de larven van deze soort leven in open wonden bij mens en dier, ze voeden zich evenwel uitsluitend met dode weefsels en bij voorkeur met etter. In feite spelen ze dus een voortreffelijke

rol, die de spontane genezing der wonden in de hand werkt. Ze werden overigens practisch daartoe gebruikt en meerdere onderzoekers hebben voor bepaalde aandoeningen b.v. Actinomycose, een made-therapie beschreven. Deze soort bestaat over gans Belgisch-Congo, ze is evenwel het talrijkst in Ituri, Kivu en Ruanda-Urundi.

Hemipyrellia fernandica Macquaert

Deze larven waren voordien onbekend als myiase-verwekkers. In de verzamelingen van het Kon. Museum van Belgisch Congo vond ik evenwel larven en uitgekweekte volwassen vliegen met de vermelding ,,Myiase''. Het betreft materiaal ingezameld door J. Bourguignon te Coquilhatstad in XI. 1926 en dat ontegensprekelijk tot deze soort behoort. De larven zijn herkomstig uit open etterende wonden bij de eend (canard de Barbarie) maar de waarnemer vermeld geen nauwere gegevens.

Meer dan waarschijnlijk is deze soort een zuiver coprobiont die toevallig ook broedt in lijken en etterende wonden zoals meerdere Chrysomyia en Luciliasoorten het doen.

Passeromyia heterochaeta Rodh. & Vill.

De larven zijn bloedzuigend op jonge vogels die nog in het nest liggen en die zeer dikwijls dit parasitisme niet overleven.

Beschreven uit Neder-Congo (Boma) werd deze soort verder teruggevonden in volgende localiteiten :

Uele : Ango (Rodhain) in zwaluwnest.
Ituri : Vieux-Kilo (R. P. Thalman).
Katanga : Elisabethstad (J. Bequaert).
Urundi : rivier Ruzizi (Van Saceghem).
Neder-Congo : Leopoldstad (Rodhain) in nest van Passer diffusus.

II. Gastricole Myiasis

Gasterophilus ternicinctus Gedoelst 1912

Gasterophilus Gedoelsti, Rodhain & Bequaert, Rev. Zool. Bot. Afr., 8, 1920, p. 188 (**syn. nov.**).

Ik heb van deze soort volgende monsters in het Kon. Museum van Belgisch Congo kunnen onderzoeken :

Katanga : 6 mijlen ten W. van de Luapula, 10° Z. b. 30-VIII-1911 (Macdonald), de typische reeks werd gevonden in de einddarm van Hippotigris Burchelli.
Elisabethstad (Bertrand), in maag van Hippotigris Burchelli.
Biano (J. Bequaert).
Belgisch Congo, zonder localiteit 1927, in Hippotigris Burchelli (ex coll. Gedoelst).

De volgende extra-congolese monsters werden me geschonken door J. Bequaert van het Museum of Comparative Zoology, Harvard College (U.S.A.) ik druk hem hierbij mijn hartelijke dank uit :

Tanganyika Terr. : Namirembe, 2[e] en 3[e] stadiumlarven, paratypen van G. Gedoelsti.
Kenya : Nairobi.
Transvaal : Rustenburg.

De synonymie van deze twee soorten laat geen twijfel meer. Ze werd overigens vermoed door Zumpt en Paterson in hun uitstekend werk over de afrikaanse soorten der Gasterophilidae (Journal Ent. Soc. S. Afr. XVI, 1953, p. 59-72); ,,This species (*G. Gedoelsti*) is at least closely related to G. ternicinctus and is possibly conspecific with it, as we have seen intermediates".

Het is juist de aanwezigheid van tussenvormen, zelfs in de typische reeks die laat besluiten tot de conspecificiteit der twee vormen.

Gasterophilus intestinalis De Geer

In Belgisch Congo lijkt deze soort even zeldzaam als de vorige. Het is evenwel gewaagd deze soort definitief als zeldzaam te beschouwen gezien toch zo weinig Oestriden monsters ingezameld worden.

Het is inderdaad abnormaal dat geen enkele der twee monsters uit Belgisch Congo gekend, in het paard gevonden zijn, niettegenstaande deze soort toch een cosmopoliet parasiet van dat dier is; ze werd buiten Congo bovendien uitzonderlijk gevonden bij de zebra in Zululand.

Katanga : Elisabethstad 6.XII.1911 (Valdonio) in de maag van een muilezel.

Katanga 1933 (Dogot) imago ♀, vangst.

Ituri : Nioka, Veeartsenijkundig Laboratorium van het N.I.L.O. (J. Gillain), 2[e] stadium larven in de maag van een rund. Het valt te betwijfelen of de volledige ontwikkelingscyclus zich kan voltrekken bij een herkauwer.

De 1[e] stadium larven kunnen ook gevonden worden in de mond der Eenhoevigen.

Anderzijds kan hetzelfde stadium van Gasterophilus larven aanleiding geven tot een eigenaardig huidmyiasis bij de mens, waarvan de etiologie uitstekend bestudeerd werd door de russische onderzoeker Chereshnev (Dokl. Akad. Nauk S.S.S.R. (N.S.) 99, 1954, p. 661-664).

Gyrostigma Pavesii Corti

Sinds de publicatie van Rodhain en Bequaert (Bull. Biol. France et Belgique 52, 1919, 449) die deze soort behandelt werd geen aandacht meer geschonken aan deze darmparasiet van de

Neushoorn. De huidige gekende specimina eitjes, larven en poppen herkomstig uit Belgisch Congo en aanwezig in het Museum te Tervuren zijn deze die gevonden werden door vermelde auteurs in het N.-O. van de Uele en meer speciaal in de omgeving van Dungu. De expeditie Lang-Chapin vond ze in groot aantal bij Faradje (Ituri).

Bij ons werd deze soort uitsluitend gevonden bij Ceratotherium simum Cottoni Lyd.; de larven van stadium 3 zijn allen volwassen in het begin van het regenseizoen.

Ik heb deze specimina kunnen vergelijken met monsters uit Zululand en gevonden in de maag van Diceros bicornis L., de zwarte Neushoorn.

Gyrostigma meruensis Sjostedt

Ik vermeld deze soort hoewel ze tot heden nog niet gevonden werd in Belgisch Congo. Men mag evenwel vermoeden dat ook deze soort in het Zuiden zal gevonden worden.

Tussen de verzamelingen van het Museum vond ik een monster uit Zuid-Rhodesia (zonder nadere localiteit), larven herkomstig uit de maag van Diceros bicornis L.

Bequaertomyia loxodontis Brauer

De larven leven in het spijsverteringskanaal van de Olifant, ze worden zeer dikwijls gevonden in associatie met de larven van de volgende soort. Ook in de uitwerpselen vindt men normaal de volwassen 3^{e} stadium larven met deze der volgende soort.

Eén dier kan honderden van deze larven onder alle stadia in zich dragen.

De eitjes worden gekleefd aan de slagtanden of op de lippen van de waard. Er worden maximum 200 eitjes gelegd.

De 3^{e} stadium larven worden met de faecalia uitgeworpen en ontwikkelen zich in de bodem onmiddellijk tot pop. Het nymphestadium is kort en duurt ongeveer 16 dagen.

Van deze buitengewoon gemene soort heb ik de volgende monsters kunnen bestuderen :

Neder-Congo : Leopoldstad (Deheyn, Dierentuin).
Tshuapa : Opper-Tshuapa VI-1925 (J. Ghesquière).
Lukolela VIII-1925 (J. Ghesquière).
Leopold II Meer : Monkakati (Bolobo) 4-V-1921 (H. Schouteden).
Mongende (Bolobo) 18-IV-1921 (H. Schouteden).
Stanleystad : Yangambi 11-V-1939 (Parent).
Stanleystad 28-III-1934 (Provinciaal Gouvernement).
Uele : Buta 1957 (Hutsebaut).
Api (Mouchet).
Bambesa (P. L. G. Benoit).
Medje (H. Schouteden).
Mboli (P. L. G. Benoit).
Gangala na Bodio (Domesticatiestation).
Ngenze bij Gangala na Bodio IV-1957 (Cornet d'Elzius).

Ituri : Nioka (Gillain).
Lualaba : Mutombo-Mukulu III-1931 (P. Quarré).
Kasai : Basongo 18-VIII-1921 (H. Schouteden).
Rodhain en Bequaert (l.c.p. 413) citeren deze soort nog uit Bagboro bij Yakuluku, Vankerkhovenville (Uele) en Bokala (Kasai).

Rodhainomyia Roverei Gedoelst

Cobboldia Roverei Gedoelst. Rev. Zool. Bot. Afr. IV, 1915, p. 156 (verschenen op 25.IV. 1915).

Cobboldia chrysidiformis Rodhain & Bequaert. Bull. Soc. Path. exot. VIII 1915, p. 773 (vergadering van 8.XII.1915) **syn. nov.**

De typen van beide soorten bevinden zich in het Kon. Museum van Belgisch Congo; de verzamelingen van deze instelling bevatten nog monsters herkomstig uit de localiteiten vermeld bij de vorige soort.

De biologie komt grosso modo overeen met de B. loxodontis. De eitjes worden gekleefd aan de slagtanden op de zone die niet bestendig door de tromp wordt afgewreven en de pas ontslopen larven kruipen rechtstreeks in de mond. Het nymphestadium duurt ongeveer 10 dagen.

III. Cavicole Myiasis

Pharyngobolus africanus Brauer

De larven leven in de oesophagus van de olifant, met de mondhaken gehecht bij de cardia ofwel gehecht in de neusholten.

Algemeen verspreid waar zijn gastheer aanwezig is, bestaat er praktisch geen olifant die niet met deze Oestride besmet is.

Volgende monsters zijn uit Congo bekend; ik heb ze allen kunnen bestuderen :

Tshuapa : Opper-Tshuapa VI-1925 (J. Ghesquière).
Lukolela IX-1923 (J. Ghesquière).
Leopold II Meer : Monkakati (Bolobo) 4-V-1921 (H. Schouteden).
Mongende (Bolobo) 18-IV-1921 (H. Schouteden).
Stanleystad : Yangambi 11-V-1939 (Parent).
Bandundu 1931 (Chaussier).
Uele : Buta 1937 (Hutsebaut).
Paulis, Mboli 1948 (P. L. G. Benoit).
Bambesa 1947 (P. L. G. Benoit).
Ituri : Abambi 24-VI-1939 (P. Janssens).
Kasai : Basongo 18-VII-1921 (H. Schouteden).
Rivier Kasai 7-VI-1921 (Nuls).
Rodhain citeert deze soort tevens uit de voormalige domesticatiestations van olifanten in de Uele : Api en Ango.

Naar Rodhain en Bequaert, wanneer het 3e stadium volwassen is bevrijden de larven zich, gaan doorheen het spijsverteringskanaal en worden uitgedreven met de uitwerpselen om in de grond te gaan verpoppen. Ik kan deze waarnemingen niet bevestigen. De larven werden nooit gevonden in het darmkanaal maar wel

in de neusholten; langs waar het volwassen 3e stadium uitgeworpen wordt. Het zijn typisch cavicole larven.

Rhinoestrus Nivarleti Rodh. & Beq.

Deze larven huizen in de voorhoofdsinus van Potamochaerus-soorten. Ze werd gevonden in volgende localiteiten :

Leopold II Meer : Bolobo 24-III-1922 (H. Schouteden) in frontale sinus van Potamochaerus porcus n° 326 en 340.
Stanleystad : Yongama (Nivarlet) in frontale sinus van Potamochaerus porcus en niet P. chaeropotamus zoals Rodhain en Bequaert publiceren in de beschrijving der soort.
Yambuya (J. Bequaert) bij dezelfde waard.
Uele : Bili (J. Rodhain) — bij de zelfde waard.
Bambili (J. Rodhain) — bij dezelfde waard.
Paulis 1948 (P. L. G. Benoit) — bij dezelfde waard.
Ituri : Penge II. 1914 (J. Bequaert) — bij dezelfde waard.

Rhinoestrus phacochaeri Rodh. & Beq.

De larven van deze soort volbrengen hun ontwikkelingscyclus in de frontale sinus van Phacochaerussoorten.

Men kende tot heden alleen de specimina van de typische reeks herkomstig uit Uele.

Onlangs evenwel overhandigde mijn collega F. Weyer van het Bernhard-Nocht Institut für Tropenkrankheiten te Hamburg me ter studie, larven herkomstig uit Kamerun : Zuidelijke Gavoria 24.VII.1955 en gevonden in de frontale sinus van Phacochaerus aethiopicus; deze larven horen zonder twijfel tot deze soort maar de spinulatie is licht verschillend van deze der typische reeks.

Rhinoestrus hippopotami Grünberg

Deze soort parasiteert de frontale sinus bij het Nijlpaard. Gekende monsters uit Belgisch Congo :

Uele : Ango (Rodhain & Bequaert).
Maniema : Niangwe (J. Ghesquière).
Kasai : riv. Lulua, gebied Luisa 4-VIII-1957 (J. Marques).

Kirkioestrus Surcoufi Gedoelst

De larven leven in de frontale sinus bij antilopen van het geslacht Alcelaphus.

De soort is verspreid van Senegal tot Portugees Oost-Afrika. In Belgisch Congo werd ze tot heden alleen gevonden in Uele en steeds bij Alcelaphus lelwel Jacksoni; volgende monsters waren ter mijner beschikking : Dungu (Rodhain), Ango (Rodhain), verder meerdere monsters zonder nadere bepaling van localiteit en ingezameld door J. Ghesquière en Mouchet.

Neokirkia minuta Rodh. & Beq.

Cavicole larven levend in de frontale sinus bij antilopen van de geslachten Alcelaphus en Damaliscus.

Uele : Dungu (J. Rodhain) in Alcelaphus lelwel Jacksoni.
Gangala na Bodio 15-V-1936 (L. Lippens) in Alcelaphus lelwel Jacksoni.
Kivu : Kabare (J. Bequaert) in Damaliscus korrigum.
Nationaal Albert park (Van Saceghem) in Damaliscus korrigum.

Gedoelstia cristata Rodh. & Bequaert 1913

Gedoelstia Hässleri Gedoelst. Rev. Zool. Bot. Afr., 4. 1915, p. 148 (verschenen 25.IV.1915) **syn. nov.**

Gedoelstia paradoxa Rodh. & Bequaert. Bull. Soc. Path. exot., 8, 1915, p. 453 (verschenen XII.1915) **syn. nov.**

Zeer verspreide soort waarvan de larven leven in de frontale sinus bij het ,,Hartebeest'' Alcelaphus Lichtensteini en A. lelwel tevens bij de Damaliscusantilopen.

De twee synoniemen werden door hun auteurs ongeveer tegelijkertijd beschreven. G. cristata werd beschreven op jonge 3e stadiumlarven; integendeel de twee synoniemen waren gebaseerd op volwassen 3e stadiumlarven, klaar tot verpoppen.

Dank zij het onderzoek van honderden 3e stadiumlarven is het me duidelijk gebleken dat dit stadium onderhevig is aan een grote variabiliteit wat betreft de spinulatie van het lichaam. Het is nu juist uitsluitend op dit karakter dat beide synoniemen gebaseerd waren. Men vindt alle overgangsvormen tussen 2 en 4 rijen spinula op de ventrale zijde der lichaams-segmenten maar zelfs wanneer slechts 2 rijen bestaan, bevindt er zich steeds een 3e microscopische reeks tussen de 2e rij. Deze karakters worden niet beinvloed door de aard van de waard.

De soort is verspreid in Belgisch Congo overal waar de gastheren bestaan. Ik onderzocht ettelijke monsters uit Uele, allen gevonden in Alcelaphus lelwel Jacksoni. De Kivu monsters : Kabare (J. Bequaert) en Kibirisa (L. Lippens) spruiten uit Damaliscus korrigum. De Katanga monsters : baan Elisabethstad-Kasenga, op 100 km. van Elisabethstad (M. Bequaert) en Mutaba, baan Moba-Maliro (H. Bomans) uit frontale sinus van Alcelaphus Lichtensteini; een Katanga monster zonder nader gekende localiteit werd gevonden in Damaliscus. Ik beschik tevens over een Sankuru-monster Tshimboko, N'Tongo 25.V. 1934 (Bouvier), gastheer onbekend.

Loewioestrus variolosus Loew 1863

Oestrus Bertrandi Rodhain & Bequaert, Bull. Soc. Path. exot. 8, 1915, p. 453. **syn. nov.**

Oestrus disjunctus Gedoelst. Rev. Zool. Bot. Afr. 4, 1915, p. 259. **syn. nov.**

Meer dan waarschijnlijk heeft deze soort nog een ander synoniem : Oestrus interruptus Gedoelst (Bull. Ent. Res. 9, 1919, p. 333). Deze soort zou inderdaad gekenmerkt worden door de onderbroken spinulatie op het 3[e] segment, de auteur voegt er echter aan toe dat in het midden een reeks microscopische spinula kunnen aanwezig zijn.

Deze wijd verspreide soort in Afrika is tevens aanwezig in Belgisch Congo :

Uele : (Rodhain en Bequaert) in Alcelaphus lelwel Jacksoni.
Dungu : (Rodhain & Bequaert) in dezelfde waard.
Kivu : Mutara 1953 (F. L. Lambrecht) in Damaliscus korrigum.
Katanga : (J. Rodhain) in Hippotragus equinus.

Oestrus Macdonaldi Gedoelst

Buitengewoon zeldzame soort, in Congo alleen gevonden in Katanga bij Alcelaphus Lichtensteini (6 Mijlen ten W. van de Luapula, 10° 23) en later teruggevonden in dezelfde streek door J. Bequaert bij dezelfde antiloop.

Gedoelst (Bull. Ent. Res. 9, 1919, p. 335) meldt deze soort ook uit Nyassaland en uit Mozambique steeds bij dezelfde gastheer.

Oestrus aureoargentatus Rodh. & Beq.

De larven van deze soort leven in de frontale sinus bij de „Paardantiloop" Hippotragus equinus maar werden tevens gevonden bij Alcelaphus lelwel Jacksoni.

De beide uit Uele herkomstige monsters (Dungu en Gangala na Bodio) werden gevonden bij Alcelaphus. De talrijke Katanga monsters : Bukama, Sankisia, Kabwe meer, Upemba meer, Fungwe vallei werden gevonden bij Hippotragus.

Gedoelst (l.c.p. 335) meldt deze soort tevens uit Mozambique en Uganda.

Oestrus compositus Gedoelst

Soort verspreid over gans Oost-Afrika : Abyssinie, Kenya, Soedan, Mozambique en Belgisch Congo (Kivu en Katanga).

Het is alleen van de congolese monsters dat de waard met zekerheid gekend is, ze werden allen gevonden bij Alcelaphus Lichtensteini behalve één monster bij Damaliscus.

Verspreiding in Belgisch Congo :

Kivu : Mutara 1953 (F. L. Lambrecht) in Damaliscus korrigum in associatie met Loewioestrus variolosus Loew.
Katanga : Kapiri (Legros) — in Alcelaphus Lichtensteini.
Sankisia XII-1911 (J. Rodhain) in idem.
Kiambi 20-IV-1931 (G. F. de Witte) in idem.
Tanganyika : Mutaba XII-1953 (H. Bomans) meerdere monsters steeds in Alcelaphus Lichtensteini.

Oestrus ovis L.

Deze soort is nu verspreid over de ganse wereld en werd ook ettelijke malen in Belgisch Congo gevonden bij Schaap, Geit en Okapi. Tot op heden werd ze niet gevonden bij de mens in onze afrikaanse gebieden. Verspreiding in Belgisch Congo :

Stanleystad en omgeving — meerdere monsters ingezameld door Richard bij de geit en Ghesquière bij het schaap.
Bukavu IV-1937 (J. Ghesquière).
Kapona X-1957 (Zielinsky) bij schaap.
Ruanda : Kisenyi en omgeving, ettelijke monsters ingezameld door Van Saceghem en gevonden bij geit en schaap.
Astrida 1948 en 1949 (A. Fain) — monsters herkomstig uit geiten.

Aan deze gegevens moeten toegevoegd worden, de larven van deze soort gevonden bij een Okapi, gestorven in de Zoo te Antwerpen zes weken na zijn aankomst (Rodhain, Rev. Zool. Bot. Afr., 14, 1926, p. 137-139). De Okapi was herkomstig uit de streek van Epulu (Ituri). Ik heb deze larven terug bestudeerd; ze behoren wel degelijk tot deze soort.

RESUME

Les diptères, causant les Myiases obligatoires au Congo Belge

L'auteur dresse l'inventaire complet des Diptères (Oestrides, Gasterophilides et Calliphorides) dont les larves sont actuellement connues au Congo Belge comme étant l'agent causal de myiases obligatoires; en même temps les hôtes et la distribution géographique sont cités pour chaque espèce.

Supplémentairement aux trois groupes biologiques classiques : larves cuticoles, gastricoles et cavicoles, l'attention est attirée sur les espèces dont les larves vivent dans les plaies ouvertes tant chez l'homme que chez les animaux.

Plusieurs espèces qui possèdent un animal comme hôte primaire, peuvent se rencontrer secondairement chez l'homme.

SUMMARY

The Obligatory-Myiasis producing Diptera of the Belgian Congo

A complete survey is given of the Diptera (Oestridae, Gasterophilidae and Calliphoridae) the larvae of which have been found so far in the Belgian Congo as causing obligatory myiasis.

The hosts and the geographical distribution of the species are discussed. Apart from the three classical biological groups : cuticole, gastricole and cavicole larvae, the attention is drawn towards the species whose larvae live in open wounds of men and animals.

Several species which have animals as primary hosts, can also secondary occur on men.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Obligat Myiasis erregende Diptera vom Belgischen Kongo

Der Verfasser gibt eine vollständige Übersicht der Diptera (Oestridae, Gasterophilidae und Calliphoridae), dessen Larven bis heute im Belgischen Kongo inventarisiert wurden als Erreger von Obligat Myiasis. Die Wirte und die geographische Verbreitung werden besprochen.

Nebst den drei klassischen biologischen Gruppen : Cuticole, Gastricole und Cavicole Larven, wird die Aufmerksamkeit auf die Arten gelenkt dessen Larven in offenen Wunden von Menschen und Tieren leben.

Mehrere Arte welche Tiere als primäre Wirte haben, können auch sekundär beim Mensch auftreten.

Dr G. Van Grembergen, Gent

V : Tussen de aangehaalde Oestridae zijn er waarvan de larven kruipend zijn, andere stationnair. Is daar iets uit te halen onder opzicht van verwantschap?

A : Er bestaat geen verwantschap tussen cuticole larven die enerzijds kruipende of anderzijds stationnaire myiasis verwekken. Soorten behorend tot phylogenetisch niet verwante groepen kunnen wat deze karakters betreft, similair zijn.

LEVENSWIJZE EN BESTRIJDING VAN SLAKKEN IN DE RIJSTVELDEN VAN SURINAME

door

J. van Dinther

Wageningen

Als de voornaamste plagen van de rijstcultuur in Suriname (Z. Amerika) moeten genoemd worden : de stengelboorders *Rupela albinella* (Cram.) en *Diatraea saccharalis* (F.), alsmede de slakken *Pomacea* (*Ampullaria*) *lineata* (Spix) en *Pomacea glauca* (L.). Terwijl stengelboorders van rijst voor alle tropengebieden als een belangrijke plaag bekend staan, worden in de literatuur slakken zelden als een plaag van het rijstgewas vermeld, en dan nog alleen voor streken buiten de tropen (Copeland, 1924; Grist, 1955).

Suriname vormt blijkbaar een uitzondering. Grote schade wordt aangericht door de slakkensoort *Pomacea lineata* (Spix), in mindere mate door *P. glauca* (L.). *P. lineata* heeft zijn verspreidingsgebied in Brazilië en de drie Guyana's; *P. glauca* komt voor in Columbia, Bolivia, Venezuela, Trinidad, Barbados, Grenada, Guadeloupe, de drie Guyana's en Brazilië. Reeds tientallen jaren is het slakkenprobleem in Suriname bekend. De schade neemt evenwel de laatste jaren merkbaar toe in die gebieden, waar men de nieuwe cultuurmethode volgt van de directe uitzaai van de rijst in water.

De beide slakkensoorten komen als regel tezamen in de rijstvelden voor, *P. glauca* echter steeds in veel kleinere aantallen dan *P. lineata*.

De slakken verschijnen 's nachts, vooral na regen, boven het water om hun eieren te deponeren op stengels van in of aan het water groeiende planten, op uitstekend houtwerk e.d. De eieren worden door de slak in een hoopje bijeen afgezet, op een hoogte van 5-40 cm boven het wateroppervlak. Het eilegsel van *P. lineata* heeft een lengte van 4-8 cm en bestaat gemiddeld uit 200-300 rose gekleurde eitjes, die een diameter hebben van 2,8 mm. Het eilegsel van *P. glauca* heeft een lengte van 2,5-5 cm en is opgebouwd uit ongeveer 30-90 groen gekleurde eitjes, van een diameter van 4-5 mm (fig. 1).

De eieren van *P. lineata* komen uit na 13-16 dagen, die van *P. glauca* na 14-17 dagen. De jonge slakken begeven zich in het

Fig. 1 — Eilegsel van *Pomacea lineata* (Spix), links, en van *P. glanca* (L.), rechts. Natuurlijke grootte.

Fig. 2 — Slakkenhuis van volwassen *P. lineata* (Spix); 4/5 × natuurlijke grootte.

Fig. 3 — Slakkenhuis van volwassen *P. glanca* (L.); 4/5 × natuurlijke grootte.

water en verspreiden zich geleidelijk. Op een vlakke kleibodem, onder water, kunnen de *P. lineata* slakjes zich met een snelheid van 2-5 cm/minuut verplaatsen. Per etmaal worden afstanden van meerdere meters afgelegd. Oudere dieren kunnen zich over veel grotere afstanden verplaatsen.

Het slakkenhuis van de volwassen *P. lineata* bereikt een aslengte van ongeveer 5 cm, dat van *P. glauca* van 3,5-4 cm (zie fig. 2 en 3).

Beide slakken hebben het vermogen om lang onder water te blijven waarbij ze door kieuwen ademen.

Zij komen echter van tijd tot tijd aan de oppervlakte om met behulp van een uitstulpbare buis lucht in een longholte te brengen. De ademhaling door longen stelt de slakken ook in staat om perioden van droogte te overleven, waarbij zij zich in de modderbodem boren. In proeven bleek dat slakken, die vier maanden in een steenharde opgedroogde kleibodem hadden gezeten, weer actief werden nadat de klei gedurende een dag doorweekt was. In de rijstvelden zal dan ook een belangrijk percentage van de slakken in de bodem de droge tijd doorbrengen, om na de bevloeiing weer een bedreiging voor het gewas te vormen. Een ander deel van de slakken trekt zich bij het aflaten van het water in de irrigatie kanalen terug.

Beide slakken voeden zich met een groot aantal plantensoorten. Vreterij aan rijstplanten heeft voornamelijk plaats gedurende ongeveer een maand na het ontkiemen. Wanneer rijst van 6-8 weken oud wordt overgeplant, zoals dit bij de kleinlandbouwer gebruikelijk is, kunnen evenwel de planten tijdens het overplanten en nog gedurende enige tijd daarna aangetast worden. Met behulp van hun monddelen kunnen de dieren door scheuren, bijten en afraspen de plantenweefsels vernielen.

De ontwikkelingsperiode van ei tot volwassen slak duurt van 8 tot 12 maanden en is afhankelijk van de hoeveelheid voedsel, de hoeveelheid water en de duur van de droge tijd. De maximale eiproductie valt in de grote regentijd, tussen half April en half Augustus.

Bestrijdingsproeven

In laboratoriumproeven werd het effect van vier chemicaliën op slakken van de soort *P. lineata* onderzocht. Bepaald werd de concentratie aan bestrijdingsmiddel, die 90% van de dieren doodde (LD 90). De middelen waren : HCH — 5% stuifpoeder, HCH — 25% spuitpoeder, kopersulfaat (pro analyse) en colloïdale koper pasta 20% (20% metallisch koper gew./gew. Koperverbinding basisch koperchloride).

HCH werd beproefd als gevolg van de toevallige ontdekking van de limacide-werking van HCH door de Heer J. H. Boschman

van de Landbouwvoorlichtingsdienst te Paramaribo. Koperverbindingen zijn de van ouds bekende slakken bestrijdingsmiddelen.

Als proefdieren werden voornamelijk één-dag oude slakjes gebruikt toen bleek, dat de jonge, pas uit het ei gekomen slakjes, veel moeilijker gedood kunnen worden dan de oudere en volwassen dieren.

Glazen cylinders werden met regenwater gevuld tot hoogten van 1,5, 10, 15, 25, en 40 cm; in elke cylinder werden 20 slakjes gebracht. De HCH middelen werden als poeder door een fijnmazig doek op het wateroppervlak gepenseeld. De koperpreparaten werden als verdunde oplossingen in het water gepipetteerd. Na 24 uur werden de dode en (of) levende slakjes in elke cylinder geteld.

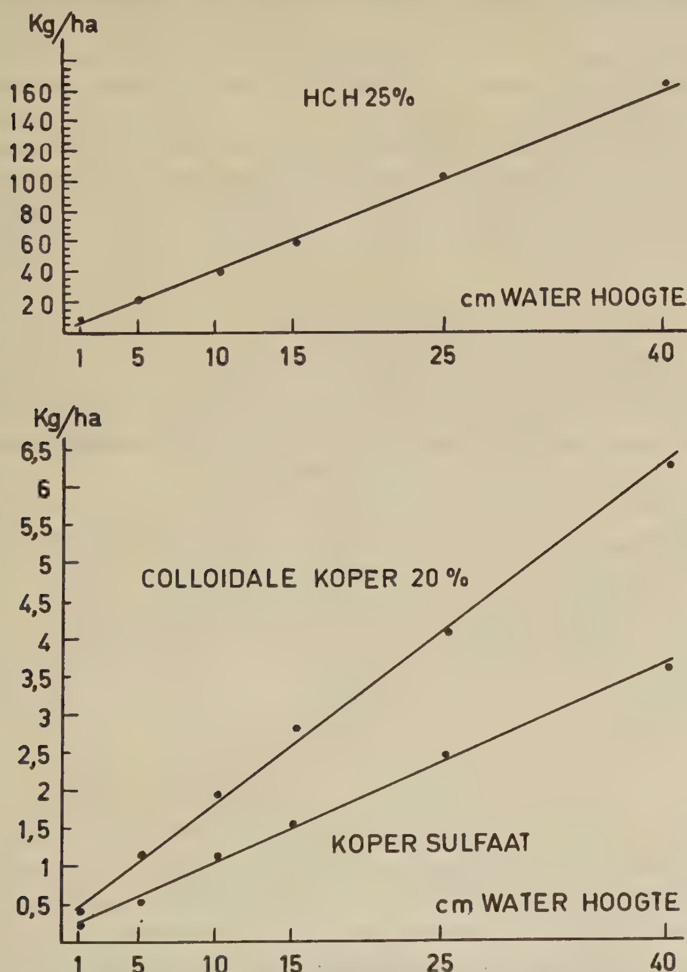


Fig. 4 — LD 90 voor 1 dag oude *P. lineata* slakken, bij verschillende waterdiepten, 24 uur na de behandeling met HCH-25%, kopersulfaat en colloidale koper 20%, uitgedrukt in kg/ha.

In tabel 1 zijn de resultaten van de proeven vermeld, terwijl zij voor HCH-25% en de beide koperpreparaten in een grafiek zijn weergegeven (fig. 4). Tabel 2 geeft de bestrijdingsresultaten tegen halfvolwassen en volwassen *P. lineata* slakken, voor een waterdiepte van 15 cm.

TABEL 1

LD 90 voor 1-dag oude *P. lineata* slakken, bij verschillende waterdiepten, 24 uur na de behandeling, uitgedrukt in mg/wateroppervlak van de cylinder en (tussen haakjes) kg/ha

LD 90 at various water depths, for newly-hatched snails after 24 h exposure, expressed in mg/water surface area and (between brackets) kg/ha

Waterhoogte (*Height of the water*) Wateroppervlak (*Surface area of the water*)	1 cm 133 cm^2	5 cm 133 cm^2	10 cm 133 cm^2	15 cm 133 cm^2	25 cm 133 cm^2	40 cm 64 cm^2
HCH -5%	60 (45)	160 (120)	300 (226)	430 (323)	850 (515)	520 (813
HCH -25% w. p.	12 (9)	30 (23)	56 (42)	80 (60)	170 (103)	105 (164
Copper sulphate p.a.	0,25 (0,2)	0,7 (0,5)	1,5 (1,1)	2 (1,5)	4 (2,4)	2,3 (3,6)
Colloidal copper – 20% ..	0,5 (0,4)	1,5 (1,1)	2,5 (1,9)	3,7 (2,8)	6,7 (4,1)	4,0 (6,3)

TABEL 2

LD 90 voor half-volwassen en volwassen *P. lineata* slakken, bij een waterdiepte van 15 cm, 24 uur na de behandeling

LD 90 at water depth of 15 cm, for medium-sized and fullgrown *P. lineata* snails after 24 h exposure

Bestrijdingsmiddel *Chemical*	mg/133 cm^2	kg/ha
HCH — 5%	90	68
HCH — 25% w.p.	20	15
Copper sulphate pro an. ...	1,8	1,4
Colloidal copper — 20% ..	3,0	2,3

Resumerend kunnen de volgende conclusies getrokken worden:

1. Jonge slakken zijn opvallend minder gevoelig voor HCH dan oudere en volwassen slakken. Voor een effectieve bestrijding in het veld moet hiermede terdege rekening worden gehouden.
2. HCH is in de vorm van een stuifpoeder even effectief als in de vorm van een spuitpoeder, indien een gelijke hoeveelheid aan technisch zuiver HCH gebruikt wordt.

3. Colloidaal koper 20% is bijna 6 keer en kopersulfaat tenminste 10 keer zo effectief als HCH.
4. De hoeveelheid te gebruiken bestrijdingsmiddel is evenredig aan de waterdiepte.

De eindconclusie is, dat een bestrijding van de slakken met HCH en koper zeer goed mogelijk is, te weten met (voor een doding van 90% van de dieren) : HCH in een dosis van 1 kg/ha/cm waterdiepte; kopersulfaat in een dosis van 100 g/ha/cm diepte.

Aan de hand van deze gegevens kunnen voorlopige adviezen voor de praktijk gegeven worden. Hierbij is rekening te houden met de drie verschillende rijst cultuurmethoden, die in Suriname hun toepassing vinden. Te onderscheiden zijn n.l. : (*a*) de directe uitzaai in het veld van voorgekiemd zaad op een geëgaliseerde modderige bodem, (*b*) de directe uitzaai in het veld in water, d.w.z. op een kleibodem waarboven zich een laag water bevindt, (*c*) het uitzaaien op kleine kweekbedden, van waaruit de planten op een leeftijd van 6-8 weken overgeplant worden in het veld. De beide eerste methoden vinden hun toepassing bij de gemechaniseerde rijstverbouw. Methode (*c*) vormt de traditionele werkwijze bij de rijstverbouw door de klein-landbouwer in Suriname.

I. *De directe uitzaai op de modderbodem*

Bij het onderwater zetten van de velden, 3-4 weken na de uitzaai, worden de aanwezige slakken actief en bedreigen zij de jonge rijstplanten. Indien voor schade gevreesd wordt of schade geconstateerd wordt, moet een bestrijding worden uitgevoerd. De in- en uitlaat van het bevloeiingswater moeten voor elk rijstveld gesloten worden en ook na de bestrijding van de slakken zolang mogelijk, b.v. meerdere weken, gesloten blijven. Nadat de gemiddelde hoogte van het water op het veld gemeten is, wordt een bestuiving van het wateroppervlak met HCH uitgevoerd in een dosering van 1 kg HCH/ha/cm waterhoogte. Ook kan kopersulfaat verstoven worden in een hoeveelheid van 200 g/cm waterhoogte ha. Het gesloten houden van de in- en uitlaat heeft ten doel een herinfectie van slakken te voorkomen.

II. *De directe uitzaai in water*

Voordat tot uitzaai wordt overgegaan, moet het veld eerst gedurende een dag of vier, zo mogelijk langer, onder water worden gezet. Slakken die zich gedurende de droge tijd in een rusttoestand in de grond hebben teruggetrokken, worden geactiveerd, verlaten de grond en verblijven in het water. Indien slakken aanwezig zijn, moet een bestrijding worden uitgevoerd. De in- en uitlaat van de te behandelen velden worden hiertoe gesloten en moeten zolang mogelijk, b.v. een maand, gesloten blijven. Een HCH-bestuiving

of een kopersulfaatbestuiving wordt uitgevoerd in een hoeveelheid van resp. 1 kg HCH of 200 gram kopersulfaat per cm waterhoogte/ha. Eén dag na de bestrijding kan de padi in het water worden uitgezaaid.

III. *De kweekbed- en overplantmethode*

Op het kweekbed wordt de padi op een modderbodem uitgezaaid. Indien na enige tijd water op het bed gebracht wordt, kunnen de eventueel aanwezige slakken schade veroorzaken. De in- en uitlaat van het veld moeten nu gesloten worden. Voor verdere bestrijdingsmaatregelen kan verwezen worden naar I.

LITERATUUR

COPELAND, E. B. — (1924) *Rice*, pp. 97-98.
GRIST, D. H. — (1955) *Rice*, 2nd Edition.

P. Staner, Brussel

V : Worden de bestrijdingsmethoden in de praktijk toegepast? Kostprijs per Ha? HCH — Kopersulfaat?

A : Beide middelen worden thans in de praktijk toegepast, soms tegelijkertijd. De dosering is afhankelijk van de waterhoogte. De kostprijs per ha is mij onbekend. De bestrijding is evenwel beslist rendabel.

F. Hendrickx, St. Truiden

V : Kan gebruik van kopersulfaat niet schadelijk werken op de plant?

A : Kan inderdaad schade, in de vorm van bladverbranding, veroorzaken. Evenwel vindt de bestrijding van slakken voornamelijk preventief plaats, d.w.z. op velden vóór de rijstuitzaai. Hier behoeft geen phytotoxiciteit verwacht te worden. Mocht kopersulfaat gebruikt worden als rijstplanten reeds enige weken oud zijn en boven water staan, dan moet kopersulfaat in verdunde oplossing worden aangewend, bv. 0,5%.

O. Steen, Den Haag, Nederland

V : In the summary 1 kg BHC/ha/cm and 100 grs $CuSO_2$/ha/cm is mentioned. Are these quantities active ingredient or formulations? What is the relative economics of the two materials.

A : All quantities have been expressed as technical pure chemicals. Laboratory experiments showed that the coppers are far more effective against the molluscs than BHC. However, for a good control in the fields larger quantities of copper have to be used than can be calculated from the laboratory experiments. The effect of copper in the field is rather variable. Theoretically mollusc control by coppers is the cheapest control. In practice there are several points in favour of BHC. In using coppers there is the danger of adsorption to the clay soil.

SCHADELIJKE INSECTEN VAN RIJST IN ONZE OVERZEESE GEWESTEN

door

Chr. Pelerents

Inleiding

De schade door de rijstteelt in onze overzeese gewesten ondergaan van insecten is klein in verhouding met deze in de echte rijstlanden. Dit vloeit niet alleen voort uit het feit dat de bebouwde oppervlakte gering is (45.000 ha in 1939 en 130.000 ha in 1946) en ook omdat de grote rijstvijanden zoals *Chilo simplex* Bltr., *Cirphis unipunctata* Dup., *Spodoptera mauritia* Boisd., *Nymphula depunctalis* Gn., *Diatraea auricilia* Dudg., om er maar enkele te noemen, specifieke waterrijstbeschadigers zijn. Wel behoren zij tot de fauna van Belgisch Kongo, maar ze missen toch hun geschikt ecologisch midden voor een goede vermenigvuldiging en verspreiding. Zij zijn van gering belang omdat waterrijst slechts op kleine schaal verbouwd wordt in de Ruzizi vallei. De sawahrijst ingevoerd langs het Rijksstation van Kitobola werd na enkele jaren teeltproeven ongeschikt geacht als bevolkingsteelt spijts haar goede oogsten. Als redenen werden opgegeven de moeilijkheden voor aanleg van de noodzakelijke waterwerken, de geringe graad van ontwikkeling der inlanders, het gevaar voor malaria en slaapziekte. De eerste twee redenen vervallen daar in Nigeria en A.O.F., waar de inlanders niet meer ontwikkeld zijn de waterrijstteelt op steeds grotere schaal wordt geteeld. Hoe staat het met het gevaar voor malaria? In verband hiermede schrijft Gutschin G. G. in „Riz & Riziculture" 1939 : Door moerassige en ongezonde streken te omvormen in rationele bevloeide rijstvelden (aanvoer- en afvoergreppels) helpt men mede tot de gezondmaking dezer streken, daar alle staande waters verdwijnen die de uitverkoren plaatsen zijn van anopheleslarven. Vele streken werden alzo bewoonbaar zoals in Italië, Spanje, Portugal en Nigeria. Een andere methode bestaat in het periodisch droogleggen der rijstvelden gedurende de vegetatieve ontwikkeling der plant. Onderzoekingen hebben aangetoond dat de Anopheleslarven door de zonnestralen gedood worden telkenmale de waterlaag, waarin ze zich bevinden onder de 2 à 3 cm daalt. Deze proeven werden ondernomen door Dr. B. Vozkrensenky in Azerbeidjan en leverden zeer merkwaardige uitslagen op.

De planten leden niet onder de periodische drooglegging en de kwaliteit van het graan werd verhoogd. Door het aanleggen van sawahs wordt ook de mogelijkheid geschapen tot visteelt over te gaan, die volgens de jongste ervaringen zeer renderend is en waardoor de eiwitarmoede van de inlandse voeding merkelijk kan verminderen. We mogen de grotere hectareopbrengst, de hogere voedingskracht en de marktwaarde van de sawahrijst evenmin uit het oog verliezen! De waterrijsteelt is te beproeven vooral in goed bevolkte streken zoals Neder-Kongo.

De schadelijke insecten

De beschadigers van de bergrijst zijn maar weinig bestudeerd geworden, wellicht omdat het hier een bevolkingsteelt geldt, beperkt in haar uitbreiding.

Volgende beschadigers worden vermeld in ,,Annales de Gembloux'' Januari 1934 door R. Mayné en J. Ghesquière : *Nezara viridula L.* (Pentatomidae), *Leptocorisa apicalis* Westw. (Coreidae) *Spilostethus* (Lygaeus) *rivularis* Gem. (Lygaeidae), *Nephotettix apicalis* Motsch. (Jassidae); verder noemt J. Ghesquière in ,,Ann. Mus. Congo C., Zoologie Série III (II), tome VII, fasc. 2'' *Marasmia bilinealis* Hmps (Pyralidae) en *Nymphula depunctalis* Gn. (Nymphulidae).

Deze lijst kan met 8 nieuwe beschadigers aangevuld worden nl. : *Eldana saccharina* Wlk. (Pyralidae), *Laphysma Exempta* Wlk. (Noctuidae), *Chrysispa veridicyanea* Kraatz (Hispidae), *Sesselia flavicincta* Jac. (Galerucinae), *Carpophilus hemipterus L.*, *C. dimidiatus F.* (Nitidulidae), *Tantia albopunctata* (Pentatomidae) en *Diaperasticus erythrocephalus* Ol. (Forficulidae). De eerste beschadiger is een boorder en was tot heden alleen gekend als vijand van de maïs in Nigeria. *Laphysma Exempta* Wlk. (Noctuidae) is een ,,army-worm'' die zeer ernstige schade kan aanrichten door het afvreten van zaailingen. *Chrysispa veridicyanea*, een mooi gekleurd bladhaantje, werd nog niet als rijstvijand vermeld, hoewel nauw verwante soorten zoals *Hispa* spp. en *Trichispa sericea* Guer. goed gekende beschadigers zijn. *Sesselia flavicincta* en de oorworm zijn twee pollenvreters, de laatste ook schadelijk aan maïs in Sierra Leone. De wants, *Tantia albopunctata*, zuigt de stengel der jonge planten uit en kan aanzienlijke remming van de groei veroorzaken. De twee nitidulidae vreten aan de melkrijpe korrels.

Tot op heden wordt maar weinig aandacht geschonken aan bestrijdingsmiddelen, men beperkt zich tot voorzorgsmaatregelen. Deze bestaan in het laten verzamelen der insecten door kinderen of in het verbranden van het stro en stoppels. Nieuwere insecticiden zouden zeker prachtige uitslagen opleveren wanneer plagen uitbreken, maar de kostprijs en de noodzakelijke apparatuur zijn hier de beperkende factoren.

Eldana Saccharina Walk Fam. Pyralidae

Beschrijving en levenscyclus

De eitjes worden afzonderlijk of in groepen van 4 à 5 afgelegd op de onderzijde der bladeren. Na 4 à 5 dagen komen de larven te voorschijn en boren zich weldra in de stengel. Bij het opensnijden der stengels worden de rupsen meestal bij de knopen gevonden, één à twee per stengel. De rupsen zijn wit, wormachtig, met donkere kop en bruine halsschildplaat. De pop is zijdeachtig. Het popstadium duurt 5 à 7 dagen. De voorvleugels van deze mot zijn bruin-geel gekleurd en vertonen twee zwarte punten, ze zijn langwerpig smal. Het aderstelsel is donker gekleurd. De achtervleugels zijn wit met oker gekleurde rand en aderstelsel. Het abdomen is ringvormig behaard. De vleugelwijdte bedraagt 30 à 35 mm.

Schade

De rupsen kunnen in zeer groot aantal in de rijstvelden aanwezig zijn, zonder voorkeur voor de ene of andere variëteit. In 1948 werden in een rijstveld rond Stanleystad tot 70% der stengels aangeboord. Hun aanwezigheid wordt opgemerkt door de uitwerpselen aan de basis der bijna rijpe rijstplant. De aangetaste plant ziet er uitwendig niet slecht uit maar er worden nogal vele loze pluimen gevormd. Na de oogst werden de larven deels in het stro gevonden waar ze dan verpoppen, en deels in de stoppels waar de rupsen nog een tijdje blijven voortleven vooraleer te verpoppen. Dit laatste is wellicht te wijten aan het feit dat de stoppels langer een bron van voeding uitmaken dan het snel drogend stro. In Nigeria heeft maïs bijna uitsluitend te lijden. Bij deze plant wordt niet alleen de stengel beschadigd, de kolf heeft het nog meest te verduren. Het verpoppen geschiedt zowel in de stengel als in de kolf (Lamborn W.). Deze boorder werd het meest in de streek van Stanleystad aangetroffen.

Bestrijding

a) *Biologische*

Tachinidae werden uit Agege (Nigeria) als parasieten vermeld hoewel hun invloed veel verminderd wordt door de aanwezigheid van een hyperparasiet nl. *Encyrtus* sp.

b) *Mechanisch*

Na de oogst dienen de stoppels verbrand te worden. Indien het verbranden niet gewenst is kan men de stengels onder enkele centimeters aarde inwerken of in composthopen verzamelen. Deze laatste methode is de beste, daar de dood van de pop veel sneller

intreedt door bacteriële werking en gisting dan door te kort aan zuurstof. De poppen zijn zeer gevoelig aan hoge vochtigheid. Wellicht mag hieruit worden afgeleid dat het bevloeien van de velden een effectief bestrijdingsmiddel zou zijn. Een ander doch minder aan te raden methode bestaat in de ,,clean-farming'' t.t.z. het volledig zuiver houden van de cultuur van om het even welk ander gewas.

Chrysispa Veridicyanea Fam. Hispidae

Beschrijving en levenscyclus

De wijfjes vreten een groef in de onderzijde van het blad en leggen er 3 à 175 eitjes in 7 à 48 dagen. Doorgaans overdekken zij hun eitjes met uitwerpselen. Voor het leggen worden jonge bladeren opgezocht. Het ei-stadium duurt 4 à 15 dagen naar gelang de weersomstandigheden. De larven hollen de bladeren uit en verpoppen in hun gangen na 15 à 20 dagen. Het kevertje komt te voorschijn na 5 à 6 dagen. Het paren en het leggen heeft respectievelijk de vijfde en de negende dag plaats. Het volwassen insect is prachtig blauw-groen gekleurd, niet sterkglanzend. De sprieten zijn slank; het vijfde lid is dubbel zolang als het vierde; het zesde lid is ongeveer zolang als het tweede, het eindlid is langer dan breed en fijn grijs behaard. Het halsschild is smal in verhouding met dat der andere soorten. Langs beide zijden van de thorax vindt men vijf doornen; de eerste drie hebben een gemeenschappelijke basis; de vierde doorn is de grootste; terwijl de vijfde maar half zo lang is.

Op de voorste helft der elytra's staan vier schuin gerichte doornen, waarvan er een paar op de schouderverhevenheid staan. Op het scutellum wordt één doorn aangetroffen. Langs de zijden der elytra's staan er acht, allen naar achter gericht met kortere tussen in. De lange doornen verkleinen naar achter toe, terwijl de korte in grootte toenemen. De poten zijn slank, zwart met lichte metaalglans. Het kevertje kan lang zonder voedsel blijven voortleven. Het aantal generaties schommelt tussen 3 à 6 per jaar. De lengte bedraagt 4,5 à 5 mm.

Schade

Kweekbedden en droge rijstvelden zijn aan deze plaag onderhevig. In het Evenaarsgebied van Belgisch Kongo wordt *C. veridicyanea* aangetroffen in droge rijstvelden op plaatsen waar de grond min vruchtbaar was. Het mineren der bladeren door de larven heeft het vleksgewijze verkleuren en zelfs het afsterven dezer delen tot gevolg. De larven zijn vooral te vrezen wanneer de planten nog jong zijn, of wanneer het regenseizoen uitblijft. Iedere larve

tast 4 à 5 jonge bladeren aan. De kevers vreten de toppen der bladeren weg, de stengel wordt echter niet aangetast. De tweede oogst wordt altijd meer beschadigd dan de eerste. *Zizamia aquatica* en verscheidene andere grassoorten worden als gastplanten opgezocht.

Bestrijding

a) *Biologische*

De braconidae *Microbracon hispae* Vier. viel in Sierra Leone 8,6 à 12,5% der larven aan. Twee tot heden onbepaalde parasieten werden in enkele larven gevonden. De eerst genoemde parasiet heeft een levenscyclus van 10 à 17 dagen bij warm weder.

b) *Mechanisch*

Men kan *C. veridicyanea* effectief bestrijden indien men de kweekbedden onder water kan brengen, want dan is het mogelijk de larven naar een zijde der perceeltjes te drijven door een soort mat, uit riet vervaardigd, over de planten heen te laten glijden. Het verzamelen der kevers en larven geschiedt het gemakkelijkst 's morgens vroeg of gedurende regenachtige dagen, daar de insecten dan minst actief zijn en de kevertjes niet wegvliegen. Indien de beschadigers in groot aantal voorkomen, snijdt men de aangetaste bladeren weg. Dit echter moet gedaan worden voor de planten beginnen te bloeien.

c) *Scheikundig*

Contactgiften zoals nicotinesulfaat of oplossingen van pyrethrum en zeep leveren goede resultaten op.

C. veridicyanea wordt eveneens aangetroffen in Sierra Leone en in Gabon.

Laphysma Exempta Wlk. Fam. Noctuidae

Beschrijving en levenscyclus

De eitjes worden in groepen van 50 à 100 afgelegd op de onderzijde der bladeren. Het zijn langwerpige pakjes bedekt met zwartachtige schubben. Een wijfje legt gemiddeld 130 à 150 eitjes af.

De rups kan een lengte van 4 cm bereiken.

Studies in Zuid-Afrika doorgevoerd, hebben aangetoond dat, zoals bij de treksprinkhaan, zich twee phasen kunnen voordoen.

Men onderscheidt een ,,solitaire'' en een ,,gregaire'' phase.

Deze twee stadia kunnen o.a. herkend worden door de kleur en de afmetingen van de vertex.

Van rups tot larve telt men gewoonlijk 12 à 16 dagen.

Van larve tot imago zouden er slechts 7 dagen verlopen.

Het volwassen insect vliegt slechts 's avonds uit, terwijl het zich overdag schuil houdt in het omringend kreupelhout.

De eitjes worden zeer snel na het uitkomen van het imago afgelegd. Een cyclus zou dus niet meer dan een maand in beslag nemen.

Schade

Deze noctuidae maakt deel uit van de groep der „Army-worms". Men vindt ze in Australie, Ceylon, Indie, Indonesie en vooral in Zuid-Afrika.

Buiten de rijst kent men als gastplant, *Zea mays*, *Saccharum officinarum*, *Digitaria* sp., *Cynodon* sp., *Paspalum* sp. en *Panicum* sp.

In tegenstelling met het imago zijn de rupsen zowel 's nachts als overdag actief; ze tasten vooral jonge plantjes aan. Het blad, de middennerf uitgezonderd, wordt volledig afgewreten.

Indien de rijstplant 20 cm bereikt heeft alvorens ze door de rups wordt aangevallen dan is de schade gering, de plant vormt nieuwe bladeren, terwijl de vegetatieve cyclus een weinig verlengd wordt. Wordt de plant integendeel vroeger aangetast, dan bestaat er veel kans dat èn de bladeren èn het groeipunt afgevreten worden zodat de hele plant verdwijnt.

Men kan zich dus gemakkelijk de gevolgen voorstellen : grote uitgave voor vervoer over dikwijls lange afstanden, herzaaien in een minder gunstige periode, geringere oogst.

Gelukkig komt de plaag zelden voor in de rijststreek van Kongo. Alleen oudere inlanders kunnen twee à drie jaren van ernstige schade opnoemen. Ze zijn het eens om te verklaren dat die seizoenen gekenmerkt zijn door een ongewone droogte na de eerste regens (zaaitijd).

Indien men zich mag steunen op die verklaringen dan zou de droogte de stimulant zijn voor de „gregaire phase".

Bestrijding

Hevige regens kunnen dikwijls het beste reddingsmiddel zijn. De rupsen worden letterlijk weggespoeld, en de plantjes, indien ze niet te ernstig beschadigd zijn, groeien opnieuw snel op. Chemische bestrijding geeft dikwijls een goede uitslag. Het aanbrengen van het gewenste materiaal is dikwijls heel moeilijk. Het vernietigen der gastplanten (*Cynodon*, *Digitaria*, *Panicum* en *Paspalum*) zou zekers een gunstige invloed hebben.

Ik houd er aan te dezer gelegenheid de Heren Dr H. Schouteden en L. Berger nogmaals te bedanken voor de hulp die zij mij verleenden bij het bepalen van vele insekten.

N.B. In het jaar 1956 werden volgende streken ernstig aangetast : Opala, Yanonge' Isangi, Yahuma, Bongandanga, Basoko, Yangambi, Bengamisa en Banana : dus de noorderlijke zone van de Midden-kom.

RESUME

Insectes nuisibles au riz dans nos territoires d'Outre-Mer

Les dégâts causés par les insectes à la culture du riz dans nos territoires d'outre-mer sont minimes en comparaison avec ceux des pays importants producteurs de riz du fait que la superficie cultivée (130.000 ha en 1946) est peu importante et que les principaux ennemis du riz sont des parasites spécifiques du riz de plaines.

Mayné et Ghesquière mentionnent les insectes suivants comme ennemis du riz de montagne :

Nezara Viridula L. (Pentatomidae), *Leptocorisa Apicalis* Westw. (Coreidae), *Spilostethus* (Lygaeus) *Rivularis* Gem. (Lygaeidae), *Nephotettix Apicalis* Motsch. (Jassidae), *Marasmia Bilinealis* Hmps (Pyralidae), *Nymphula Depunctalis* Gn. (Nymphulidae).

Huit nouveau parasites du riz sont cités : *Eldana Saccharina* Wlk. (Pyralidae), *Laphysma Exempta* Wlk. (Noctuidae), *Chrysispa Veridicyanea* Kraatz (Hispidae), *Sesselia Flavicincta* Jac. (Galerucinae), *Carpophilus Hemipterus* L., *C. Dimidiatus* F. (Nitidulidae), *Tantia Albopunctata* (Pentatomidae) en *Diaperasticus Erythrocephalus Ol.* (Forficulidae).

L'auteur donne un aperçu du cycle biologique, des dégâts et des moyens de lutte contre *Eldana Saccharina, Chrysispa Veridicyanea* et *Laphysma Exempta.*

SUMMARY

Insects injurious to rice in the Belgian Congo

The damage caused by insects to rice in the Belgian Congo is small compared tot that in the true rice-countries because the cultivated area (130.000 ha in 1946) is unimportant and the most serious ennemies of rice are specific for ,,wet-rice".

Mayné and Ghesquière mention following insects as being injurious to ,,dry rice" : *Nezara Viridula L.* (Pentatomidae), *Leptocorisa Apicalis* Westw. (Coreidae), *Spilostethus* (Lygaeus) *Rivularis* Gem. (Lygaeidae), *Nephotettix Apicalis* Motsch. (Lassidae), *Marasmia Bilinealis* Hmps (Pyralidae) en *Nymphula Depunctalis* Gn. (Nymphulidae).

To this list 8 new insect pests are added : *Eldana Saccharina* Wlk. (Pyralidae), *Laphysma Exempta* Wlk. (Noctuidae), *Chrysispa*

Veridicyanea Kraatz (Hispidae), *Sesselia Flavicincta* Jac. (Galerucinae), *Carpophilus Hemipterus L., C. Dimidiatus F.* (Nitidulidae), *Tantia Albopunctata* (Pentatomidae) and *Diaperasticus Erythrocephalus Ol.* (Forficulidae).

The author gives an account of the biology, the damage and the control measures against *Eldana Saccharina, Chrysispa Veridicyanea* and *Laphysma exempta.*

ZUSAMMENFASSUNG

Schädliche Reisinsekten in unseren überseeischen Gebieten

Der wirtschaftliche Schaden, der durch Insekten an Reis in unseren überseeischen Gebieten angerichtet wird, ist unbedeutend in Vergleichung mit den echten Reisländern, da die Reisbaufläche (130.000 Ha in 1946) gering ist und die wichtigsten Reisfeinde spezifische Wasserreisschädlingen sind.

Mayné und Ghesquière erwähnen folgende Schädlingen von Trockenreis : *Nezara Viridula L.* (Pentatomidae), *Leptocorisa Apicalis* Westw. (Coreidae), *Spilostethus* (Lygaeus) *Rivularis* Gem. (Lygaeidae), *Nephotettix Apicalis* Motsch. (Lassidae), *Marasmia Bilinealis* Hmps (Pyralidae) und *Nymphula Depunctalis* Gn. (Nymphulidae).

Zu dieser Liste werden 8 neue Schädlingen hinzugefügt : *Eldana Saccharina* Wlk. (Pyralidae), *Laphysma Exempta* Wlk. (Noctuidae), *Chrysispa Veridicyanea* Kraatz (Hispidae), *Sesselia Flavicincta* Jac. (Galerucinae), *Carpophilus Hemipterus L., C. Dimidiatus F.* (Nitidulidae), *Tantia Albopunctata* (Pentatomidae) und *Diaperasticus Erythrocephalus* Ol. (Forficulidae).

Der Verfasser gibt einen überblick über die Biologie, den Schaden und die Bekämpfung von *Eldana Saccharina, Chrysispa Veridicyanea* und *Laphysma Exempta.*

BELANG VAN DE STUDIE DER WORTELKNOBBELAALTJES (*MELOIDOGYNE* SPP.) IN BELGISCH KONGO

door

A. Gillard & J. Van den Brande

Inleiding

Wortelknobbelaaltjes zijn in de literatuur vóór 1950 algemeen gekend onder de naam van *Heterodera marioni* of *H. radicicola*. De zeer verdienstelijke onderzoekingen van de amerikaanse nematoloog Chitwood (1949) hebben een nieuwe stoot gegeven aan de studie van deze ekonomisch belangrijke aaltjesgroep. Niet enkel bracht deze onderzoeker de wortelknobbelaaltjes in het geslacht *Meloidogyne* onder daar de wijfjes geen lederachtige cysten vormen, doch toonde deze auteur eveneens aan dat het wortelknobbelaaltje van voorheen uit een aantal goede soorten en ondersoorten bestaat welke zich onderling morphologisch onderscheiden en elk een eigen reeks waardplanten bezitten. Hierdoor kunnen talrijke tegenstrijdigheden uit de ,,wortelknobbelaaltjes-literatuur'' opgehelderd worden. Sedert het verschijnen van Chitwood's werk werden nog een aantal nieuwe soorten en ondersoorten ontdekt zodat tot hiertoe niet minder dan volgende 11 soorten (of ondersoorten) van wortelknobbelaaltjes beschreven werden :

Meloidogyne acronea
Meloidogyne arenaria arenaria
Meloidogyne arenaria thamesi
Meloidogyne brevicauda
Meloidogyne exigua
Meloidogyne hapla
Meloidogyne incognita acrita
Meloidogyne incognita incognita
Meloidogyne inornata
Meloidogyne javanica bauruensis
Meloidogyne javanica javanica

Daar vruchtafwisseling een niet onbelangrijk hulpmiddel is voor de bestrijding van deze wortelparasieten en daar ieder soort wortelknobbelaaltje zijn eigen reeks waardplanten heeft, is het van het grootste belang te vernemen welke soorten in een bepaald kultuurgebied voorkomen en te onderzoeken welke planten erdoor aangetast worden. Dit betekent dat de onderzoekingen van vroeger

een groot deel van hun belang verliezen en dat nieuwe onderzoekingen hieromtrent niet enkel gewenst maar hoogst noodzakelijk zijn.

Door onderzoek van materiaal verzameld in november 1956 te Elisabethstad en te Yangambi door één van ons, hopen we een aanvang hiermede te maken.

Het is onze bedoeling de aandacht van onze fytopathologen in Belgisch Kongo op dit bijzonder aspekt van het meloidogynoseprobleem te vestigen. Een grondige kennis van deze parasieten in Belgisch Kongo is slechts mogelijk wanneer de fytopathologen hiertoe hun zeer gewaardeerde medewerking willen verlenen.

Ziektesymptomen, levenswijze en oekologie

Typisch voor aaltjesziekten is dat ze geleidelijk opkomen in de loop der jaren en steeds op dezelfde plekken. De plantengroei is op die slechte plekken sterk geremd, de planten blijven klein, worden geel en kunnen bij sterke aantasting afsterven. Kenmerkend voor aantasting door wortelknobbelaaltjes is het voorkomen op de plantenwortels van knobbels of gallen waarvan vorm en grootte (meestal enkele mm tot 3-5 cm) afhangen van de aaltjessoort, van de waardplant en de plaats der plant waarop ze voorkomen.

Bij het opensnijden van zo een galletje bemerkt men talrijke witte doorschijnende bolletjes ter grootte van een kleine speldekop. Dit zijn de volwassen *Meloidogyne*-wijfjes (fig. 1). Ze zijn peer-

Fig. 1

A. Volwassen wijfje van Meloidogyne hapla (90 × vergroot) (volgens Chitwood)
B. Eitje met opgerolde larve (200 × vergroot) (volgens Chitwood)

vormig, 0,5 tot 1 mm groot en worden verkeerdelijk ,,cysten'' genoemd. De mannetjes daarentegen blijven steeds typisch draadvormig. De wijfjes leggen hun eitjes af in een gelatineus eierzakje (oötheek) dat aanvankelijk kleurloos is maar zich ten gevolge van een oxydatieproces kan verkleuren tot geel-bruin. Het aantal eitjes dat één enkel wijfje kan afleggen is zeer aanzienlijk : verschillende honderden, en uitzonderlijk tot 2800! In het noorden van de V.S.A. blijken slechts een 3-tal generaties per jaar voor te komen, in het zuiden daarentegen meer dan 10! Voor Belgisch Kongo mag dit aantal generaties eveneens op minstens 10 geschat worden. De vermenigvuldigingspotentie van wortelknobbelaaltjes is dus buitengewoon groot, reden waarom ze snel tot een ernstige plaag kunnen uitgroeien en waarom ze doelmatig behoren bestreden te worden.

In het eitje grijpt reeds een vervelling van de larve plaats. De larven van het tweede stadium ontsnappen uit de eischaal binnen in de gal en kruipen ofwel naar buiten in de bodem om nieuwe plantenwortels aan te tasten ofwel blijven ze in de gal waardoor deze nog vergroot. Het is door het wortelsekreet dat de larven gelokt worden en de plantenwortels binnendringen. Het sekreet van hun speekselklieren veroorzaakt hypertrofie van het wortelweefsel en vorming van reuzencellen. De larven groeien snel en worden spoedig worstvormig om tenslotte peervormige volwassen wijfjes te worden.

De ontwikkeling en het aantal generaties hangt in sterke mate af van de temperatuur. Eens dat de bodemtemperatuur beneden de 10° C daalt, gaat het aaltje in een slaaptoestand over. Schade begint op te treden zodra de temperatuur boven de 15° C stijgt. Bij een temperatuur van 20° C en meer treedt rijke galvorming op. Een bodemtemperatuur van 25° C gepaard met een hoge vochtigheid is ideaal voor de aaltjesontwikkeling. Wortelknobbelaaltjes vinden in de tropen dus een zeer geschikt milieu voor ontwikkeling. Volgens de onderzoekingen van Tyler (1933) duurt de gehele levenscyclus slechts 25 dagen wanneer de bodemtemperatuur 27° C bereikt en 87 dagen bij een bodemtemperatuur van 16,5° C. Het is zeer waarschijnlijk dat de ontwikkelingsduur van de ene tot de andere soort wortelknobbelaaltje zal verschillen. Voegen we hier eveneens aan toe dat de ontwikkelingsduur ook afhankelijk is van de soort waardplant en van de belichting.

Godfrey & Hoshino (1933) toonden aan dat U.V.-bestraling dodelijk inwerkte èn op de eitjes èn op de larven. Een gekombineerd effekt van zonnelicht, warmte en uitdroging veroorzaakte de dood van de wortelknobbelaaltjes na zeer korte tijd. Volgens Sveshnikova (1956) zijn ze goed bestand tegen uitdroging (tot 1,8% bodemvochtigheid!). Meestal wordt aangenomen dat de wortelknobbelaaltjes zich best ontwikkelen in zandgrond. Het ware interessant na te gaan hoe ze zich gedragen in lateriet- en savannegronden.

Oorsprong en verspreiding

Volgens Filipjev zou „*Heterodera marioni*" van zuid-aziatischen oorsprong zijn. Van uit Z-Azië, alwaar het voor allerlei kultuurplanten een echte plaag is, zou het zich over de gehele wereld verspreid hebben in deze streken welke een gunstig klimaat boden voor zijn ontwikkeling.

Schuurmans-Stekhoven is echter de mening toegedaan dat het wortelknobbelaaltje zowel oorspronkelijk kan zijn van subtropisch en tropisch Afrika en maakt de veronderstelling dat de verspreiding ervan in de hand gewerkt werd èn door de zwarte slavenhandel èn door het handelsverkeer dat reeds van oudsher tussen Afrika en de middellandse zeegebieden bestond. We zijn de mening toegedaan dat een zeer grondige studie over de verschillende soorten en ondersoorten van wortelknobbelaaltjes der tropische en subtropische gewesten het bepalen der phylogenie en het „Heimatland" mogelijks kan toelaten.

Niet enkel komen de wortelknobbelaaltjes in tropische en subtropische streken voor, doch ook in gematigde streken hebben

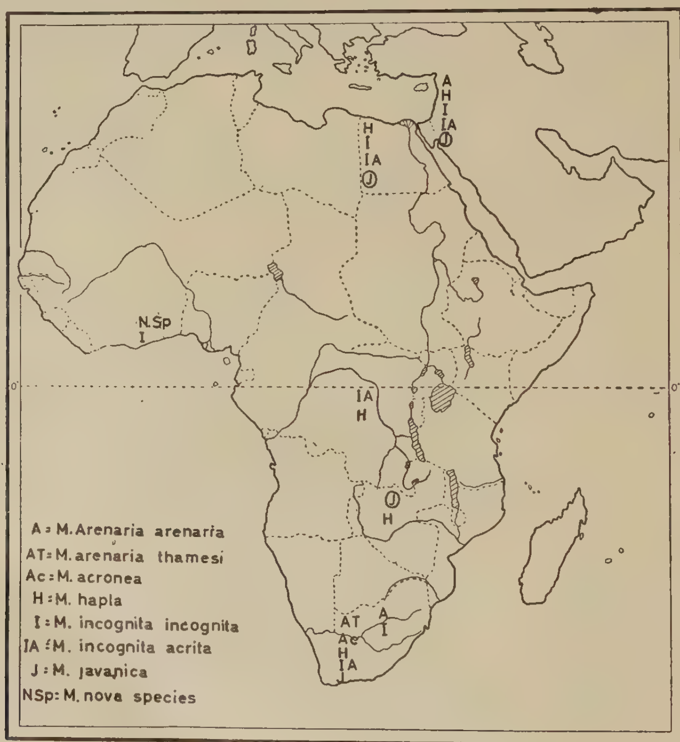


Fig. 2

Verspreiding der tot hiertoe tot de soort bepaalde wortelknobbelaaltjes in Afrika en Israel

ze zich sedert talrijke decennia definitief gevestigd. Hier is het voornamelijk onder glas dat ze aangetroffen worden, alhoewel bepaalde soorten zich zeer goed vermenigvuldigen in open veld. Zelfs tot in IJsland kent men haarden van wortelknobbelaaltjes (onder glas)!

Op het geheel Afrikaans vasteland en eveneens op de eilanden (Madagascar, Azoren, enz.) zijn de *Meloidogyne*-soorten algemeen verspreid. Zelfs in de oasen in de Sahara trof men ze aan. Verschillende onderzoekers (o.a. Edwards, Houssny & Oteifa, Peacock, Coetzee en Van der Linde) determineerden reeds voor bepaalde streken, de verschillende soorten welke er voor komen. Figuur 2 geeft een overzicht van de verspreiding van een aantal *Meloidogyne*-soorten in Afrika (+ Israël) (de vindplaatsen der wortelknobbelaaltjes welke nog niet tot de soort gedetermineerd werden, werden op de kaart niet genoteerd).

In Belgisch Kongo blijken deze wortelparasieten algemeen verspreid te zijn zoals moge blijken uit onderstaand kaartje dat opgemaakt werd grotendeels naar literatuurgegevens ons verstrekt door Ghesquière en Schuurmans Stekhoven. De wortelknobbelaaltjes uit Elisabethstad en Yangambi hebben we respektievelijk bepaald als zijnde *M. incognita acrita* en *M. hapla*.

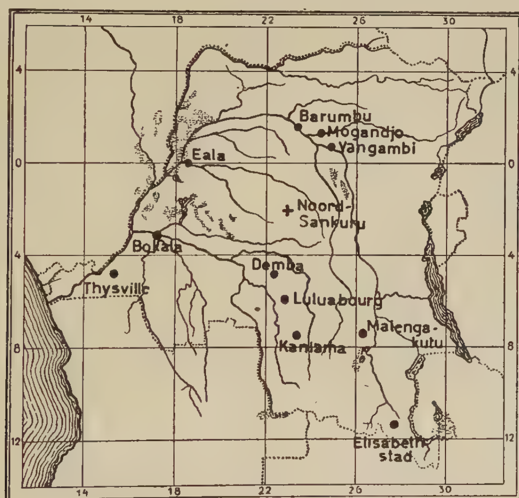


Fig. 3
Verspreiding der wortelknobbelaaltjes in Belgisch Kongo

Waardplanten en ekonomisch belang

In 1953 kende men zowat 1865 verschillende soorten waardplanten van de wortelknobbelaaltjes, vroeger gekend onder de naam *Heterodera marioni* en thans gesplitst in een 11-tal afzonderlijke soorten en ondersoorten met elk een eigen reeks waardplanten.

Deze lange verzamellijst bezit thans slechts een ondergeschikt belang daar het zaak is de waardplantenreeks van iedere afzonderlijke soort wortelknobbelaaltje te kennen. Men is dus verplicht de gehele studie over de waardplanten van deze belangrijke aaltjes groep te herzien. Het belang van een dergelijk onderzoek voor de vruchtafwisseling is overduidelijk.

Ghesquière en Schuurmans-Stekhoven vermelden volgende 60 waardplanten van wortelknobbelaaltjes voor Belgisch Kongo.

A. Monocotyledones

1. **Graminae** :
   Paspalum sp.
2. **Liliaceae** :
   Sanseviera sp.
3. **Commelinaceae** :
   Tradescantia sp.
4. **Musaceae** :
   Musa sp. (banaan)
5. **Palmae** :
   Elaeis guineensis Jacq. (oliepalm)

B. Dicotyledones

1. **Moraceae** :
   Artocarpus incisa L. (broodboom)
   Artocarpus incisa var. *seminifera* (valse broodboom)
   Artocarpus integrifolia L. (Jacqboom)
   Artocarpus sp.
2. **Piperaceae** :
   Piper umbellatum L.
3. **Euphorbiaceae** :
   Hevea brasiliensis M. A. (pararubberboom)
   Manihot esculenta Crantz (= *M. utilissima* Pohl) (cassave)
4. **Amaranthaceae** :
   Amaranthus viridis L.
   Celosia trigyna L.
5. **Portulacaceae** :
   Talinum cuneifolium Willd.
6. **Annonaceae** :
   Cananga odorata Hook (Ylang-ylang)
7. **Lauraceae** :
   Persea gratissima Gaertn. (avocado)
8. **Cruciferae** :
   Brassica oleracea L. (kool)
   Brassica rapa L. (raap)
   Brassica sp.
9. **Caricaceae** :
   Carica papaya L. (papaya)
10. **Malvaceae** :
   Abutilon eetveldeanum Wildem. & Th. Dur.
   Gossypium sp. (katoenplant)
   Hibiscus abelmoschus L.
   Hibiscus sphenoleus (?)
   Hibiscus sp.
   Sida rhombifolia L.
   Urena lobata L.
   Urena lobata var. *reticulata* Guerke
11. **Tiliaceae** :
   Berria amonilla Roxb.
   Triumfetta cordifolia A. Rich.

12. **Theaceae** :
Camellia thea Link. (= *Thea sinensis* L.) (thee)

13. **Sterculiaceae** :
Theobroma cacao L. (cacao)
Theobroma pentagona Bernouilli
Theobroma sphaerocarpum A. Chev.

14. **Balsaminaceae** :
Balsamina sp.

15. **Rutaceae** :
Citrus spp.

16. **Meliaceae** :
Cedrella odorata L.

17. **Mimosaceae** :
Neptunia sp.

18. **Leguminosae** :
Albizzia stipulata Boiv.
Albizzia lebbeck Benth.

19. **Myrtaceae** :
Caryophyllus aromaticus L. (= *Eugenia caryophyllata* Thunb.) (kruidnagel)

20. **Solanaceae** :
Lycopersicon esculentum Mill. (tomaat)
Nicotiana tabacum L. (tabak)
Solanum carolinense L.
Solanum melongena L. (eierplant)

21. **Labiatae** :
Coleus sp.
Ocimum sp.

22. **Apocynaceae** :
Funtumia elastica Stapf.

23. **Rubiaceae** :
Cinchona calisaya Wedd.
Cinchona josephiana Wedd.
Cinchona succirubra Pav. (rode kina)
Coffea arabica L. (Arabica-koffie)
Coffea canephora Pierre var. *sankuruensis*
Coffea excelsa Cheval.
Coffea liberica Hiern. (Liberia-koffie)
Coffea robusta L. (Robusta-koffie)
Coffea kwiluensis (?) = *C. kivuensis* Lebrun

24. **Compositae** :
Ageratum conyzoides L.
Ageratum sp.
Lactuca sativa L. (sla)

Volgende planten uit Yangambi en Elisabethstad werden aangetast bevonden :

A) **M. hapla** (Yangambi)
Bromeliaceae : *Ananas sativus* Schult.
Cactaceae : *Cactus* sp.
Labiatae : *Salvia* sp.
Leguminosae : *Phaseolus vulgaris* L.
Oxalidaceae : *Biophytum* sp.
Papaveraceae : *Papaver* sp.
Rubiaceae : *Geophila renaris* Wildem.
Solanaceae : *Lycopersicon esculentum* Mill.
Solanum melongena L.

B) **M. incognita acrita** (Elisabethstad)
Solanaceae : *Lycopersicon esculentum* Mill.

In Belgisch Kongo blijkt volgens de literatuur aantasting door deze wortelparasieten vooral een ekonomische betekenis te hebben voor tabak, koffie, Hevea, kakao en tomaten.

Volgens Ghesquière (1921) zou er een zeer nauwe correlatie

bestaan tussen de meloidogynosis bij kakao en Hevea en de Diplodia-ziekte. Deze auteur beschouwt de „die-back"-ziekte als een late manifestatie van de meloidogynosis.

Schadepercentages (o.a. bij kakao) van 50 tot 80% zijn geen uitzondering. Terecht bestempelde Ghesquière de wortelknobbelaaltjes als „la peste la plus destructive des plantes cultivées dans les régions chaudes".

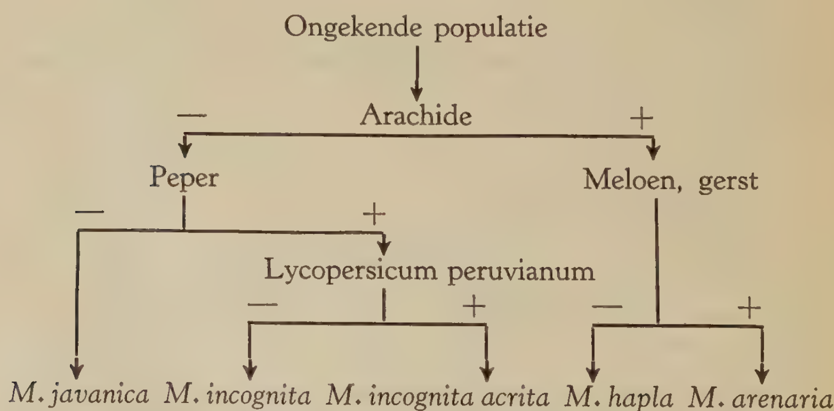
Vermelden we hier terloops dat wortelknobbelaaltjes in de V.S.A. zeer gevreesde vijanden zijn van de ananas- en katoenteelt.

De door aaltjes aangerichte ekonomische schade hangt niet enkel af van het aantal parasieten, maar eveneens van het klimaat, de soort waardplant en de kultuurzorgen. Newhall schat de jaarlijkse schade veroorzaakt door wortelknobbelaaltjes in de serres van Ohio op 100.000 dollar. Volgens Gilbert richten deze wortelparasieten in de zuidelijke staten van de V.S.A. schade aan katoen aan welke op 35 miljoen dollar mag geschat worden.

Determinatie der verschillende Meloidogyne-soorten

De bepaling der verschillende *Meloidogyne*-soorten is een eerder moeilijke taak die slechts aan specialisten kan overgelaten worden. Ze geschiedt door onderzoek van de anus-vulva streek (het zgn. perineaal patroon) die het uitzicht heeft van een vingerafdruk. Alleen *M. hapla* kan met een min of meer grote zekerheid bepaald worden naar de vorm en de grootte der galletjes die ze veroorzaakt. Deze zijn nl. zeer klein en vertonen meerdere zijwortelties.

Sasser stelde een biologische methode voor tot het bepalen der verschillende soorten wortelknobbelaaltjes. Deze methode steunt op het verschil in reaktie der waardplanten t.o.v. de verschillende *Meloidogyne*-soorten.



Schema voorgesteld door Sasser ter bepaling der wortelknobbelaaltjes volgens de reaktie der waardplanten. Een „min"-teken betekent dat de plant niet aangetast wordt, een „plus"-teken betekent aantasting.

Indien we een dergelijke methode (parasite discrimination) wensen toe te passen in Belgisch Kongo, zo komt het er op aan : 1° een juiste inventaris der aanwezige soorten op te maken; 2° de reakties van een aantal planten te bestuderen ten einde een analoog schema op te maken. Rekening zal echter moeten gehouden worden met het mogelijks bestaan van verschillende aaltjesrassen en met een eventueel verschil in reaktie van verschillende plantenvariëteiten. Bemerken we tenslotte dat dergelijk schema niet toepasselijk is wanneer we te doen hebben met twee of meerdere populaties van verschillende *Meloidogyne*-soorten.

Bestrijding

Wortelknobbelaaltjes kunnen doelmatig bestreden worden door grondontsmetting. Dit kan bereikt worden hetzij door het stomen van de grond in serres, hetzij door het injekteren in de grond van bepaalde scheikundige produkten zoals DD (6-7 l/are), chloorpicrine (4-5 l/are) en dibroomaethaan (6-7 l/are). Goede resultaten worden eveneens verkregen door de grond te doordrenken met een formol-oplossing (1 deel handelsformol voor 50 delen water); ten einde een te snelle verdamping te beletten zorge men voor een goede afdekking van de behandelde grond (zakken + strolaag).

Een oordeelkundige vruchtafwisseling helpt mede de ontwikkeling dezer wortelparasieten te remmen. Het kweken van weerstandbiedende plantenvariëteiten (o.a. tomaten) kan eveneens bijdragen de meloidogynosis te bestrijden.

Voordelige resultaten werden eveneens verkregen door inenting van de bodem met zgn. „roofzwammen".

Soprounov toonde aan dat toevoeging van ammoniumkarbonaat het effekt der zwam-parasieten verhoogde. Condakova (1953) kon door inenting van de bodem met de zwammen *Trichothecium pravicovi* en *Arthrobotrys kirghizika* de besmettingsgraad der planten reduceren.

Het ware voorzeker interessant een onderzoek in te stellen naar de soorten roofzwammen welke in de gronden van Belgisch Kongo voorkomen en er de wortelknobbelaaltjes helpen vernietigen. Deze biologische bestrijding bezit het voordeel dat ze ongevaarlijk is voor de mens, wat niet zonder meer mag gezegd worden van de chemische bestrijding.

1. ANONIEM. — Comptes rendus de recherches. La culture du tabac à Kaniama. *Bull. d'Information de l'I.N.E.A.C.*, 1953, **2**, 1, 67-76.
2. ANONIEM. — Comptes rendus de recherches. La lutte contre quelques ennemis du tabac au Lomami. *Bull. d'Information de l'I.N.E.A.C.* 1955, **4**, 4, pp. 259-278.
3. BREDO (H. J.). — Catalogue des principaux insectes et nématodes parasites des caféiers au Congo Belge. *Bull. Agric. du Congo Belge*, 1939, **30**, 2, pp. 266-307.
4. BRIXHE (A.). — Les parasites du cotonnier en Afrique Centrale. Tableau de détermination. Compagnie cotonnière congolaise, 1949, 184 pp.
5. COETZEE (V.). — *Meloidogyne acronea*, a New Species of Root-Knot Nematode. *Nature*, 1956, **177**, 4515, pp. 899-900.
6. DAULTON (R. A. C.). — Progress Report on eelworm control experiments. *Rhodesian Tobacco*, 1955, 11, pp. 21-24.
7. EDWARDS (E. E.). — Studies on Resistance to the Root-knot Nematode of the genus Meloidogyne Goeldi, 1887. *Proc. Helminthol. Soc.* Washington, 1956, **23**, 2, pp. 112-118.
8. FILIPJEV, I. N. & J. H. SCHUURMANS STEKHOVEN Jr. — A Manual of Agricultural Helminthology. Leiden, E. J. Brill, 1941, 878 pp. 460 fig.
9. GHESQUIERE (J.). — Laboratoire d'Entomologie d'Eala (Equateur). — *Bull. Agric. du Congo Belge*, 1921, **12**, 4, pp. 702-732.
10. GODFREY (G. H.) & HOSHINO (H. M.). — Studies on certain environmental relations of the root-knot nematode, *Heterodera radicicola. Phytopathology*, 1933, **23**, 1, pp. 41-62.
11. GORLENKO (M. V.). — Predatory fungi and their utilisation in nematode control. *Nematologica*, 1956, **1**, 2, pp. 147-150.
12. HOUSSNY (H. H.) & OTEIFA (B. A.) — Preliminary field tests for evaluating some tomato varieties for resistance to root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp. *Plant Disease Reporter*, 1956, **40**, 11, pp. 974-976.
13. MARTIN (G. C.). — Nematoses. *Rhodesian Tobacco*, 1954, 4, pp. 28-29.
14. MINZ (G.). — The Root-knot nematode, *Meloidogyne* spp., in Israel. *Plant Disease Reporter*, 1956, **40**, 9, pp. 798-801.
15. NAUDE (T. J.). — ,,Entomology-Nematodes" (Report of the Department of Agriculture for the year ended 31st August 1955). Farming in South Africa, 1956, **31**, 359, p. 91.
16. NEETHLING (J. L.). — ,,Scientists discover more about eelworm". *Rhodesian Farmer*, 1952, **5**, 50, p. 7.
17. PEACOCK (F. C.). — Studies on root-knot nematodes of the genus *Meloidogyne* in the Gold Coast. Part I. Comparative Development on susceptible and resistant host species. *Nematologica*, 1957, **2**, pp. 76-84.
18. SASSER (J. N.). — ,,Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) by host reaction". *Plant Dis. Reporter*, 1952, **36**, 3, pp. 84-86.
19. SCHUURMANS STEKHOVEN (J. H.). — *Heterodera marioni* (Cornu 1879). Goodey 1932. (Syn. *Heterodera radicicola* (Greeff) Muller au Congo Belge. *Bull. Musée royal d'Histoire naturelle de Belgique* 1934, **10**, 36, pp. 1-3.
20. SCHUURMANS STEKHOVEN (J. H.). — Nouvelles recherches sur les nématodes parasites des plantes au Congo belge. *Bull. Musée royal d'Histoire naturelle de Belgique*, 1936, **12**, 9, pp. 1-16.
21. STEYAERT (R. L.). — Situation phytosanitaire des cultures au Bas-Congo (à l'exclusion du Palmier à huile et des agrumes). *Bull. Agric. du Congo Belge*, 1944, **35**, pp. 127-146.
22. SVESHNIKOVA (N. M.). — A review of the study of nematodes in the families Heteroderidae and Tylenchidae, causing crop disease in the U.S.S.R. *Nematologica*, 1956, **1**, 2, pp. 151-158.
23. TARJAN (A. C.). — Geographical distribution of some *Meloidogyne* spp. in Israel. *Plant Disease Reporter*, 1953, **37**, 5, pp. 315-316.
24. TYLER (J.). — Development of the Root-knot Nematode as Affected by Temperature. *Hildegardia*, 1933, **7**, 10, pp. 391-415.
25. VAN DER LINDE (W. J.). — The Meloidogyne Problem in South Africa. *Nematologica*, 1956, **1**, 3, pp. 177-183.
26. VAN DER LINDE (W. J.). & ANGELOPULO (V.). — ,,Rootknot nematodes", *Farming in South Africa*, 1951, **26**, 302, p. 162, p. 168.

HET GEBRUIK VAN HET INSECTICIDE TOXAPHEEN ONDER TROPISCHE OMSTANDIGHEDEN

door

P. A. van der Laan

Laboratorium voor Toegepaste Entomologie, Universiteit van Amsterdam

Bij het experimenteren met insecten is het één der eerste stelregels, dat men rekening houdt met de omstandigheden, waaronder men werkt. Uitwendige factoren, voornamelijk temperatuur, vochtigheid en licht, kunnen van zo grote invloed zijn, dat de resultaten er grondig door kunnen worden veranderd.

Met deze uitwendige omstandigheden wordt meestal bij proeven met insecticiden te weinig rekening gehouden. Het zou sterk aan te bevelen zijn, bij elke veldproef gedurende de gehele periode van waarneming tevens de uitwendige omstandigheden te bepalen, en wel speciaal daar, waar het insect zich pleegt op te houden. Dat deze op zichzelf simpele premisse gemaakt moet worden, wil ik hier aan een extreem voorbeeld demonstreren.

Het toepassen van insecticiden in de tropen vergt bijzondere aandacht : de tropen, waarvan hier sprake is, zijn de regengebieden van West-Java en Sumatra, waar geen uitgesproken droge periode voorkomt, de gemiddelde temperatuur per etmaal 25-26° C. bedraagt en de relatieve vochtigheid 's nachts steeds tegen de 100% blijft, en overdag zelden beneden de 70% daalt. De regen valt meestal in zware buien, het aantal uren zonneschijn is groot, practisch is er het gehele jaar door 12 uur daglicht per etmaal.

Het gebied waar van oudsher het meest met chemicaliën tegen schadelijke insecten gewerkt wordt, is het tabaksgebied in N. O. Sumatra. Reeds in 1906 voerde De Bussy er Parijs groen in, later werden jaarlijks honderden tonnen loodarsenaat en bariumfluosilicaat gebruikt, naast derrispoeder. De behandelingen werden zeer vaak herhaald, als regel elke 3 dagen gedurende ongeveer 3 maanden, hetgeen neerkomt op 25 tot 30 behandelingen per plantseizoen! De eerste tijd wordt op de zaadbedden gespoten, later op de hoge tabak gestoven. Deze talrijke herhalingen hebben twee redenen : *a*) de tabak groeit er onder ideale omstandigheden zo snel, dat dagelijks een nieuw blad gevormd wordt,

zodat steeds nieuwe bescherming van het groeipunt nodig is; b) zware regens spoelen de middelen snel weg.

Het is begrijpelijk, dat een dergelijke veelvuldige toepassing van insecticiden slechts lonend is in een zeer arbeidsintensieve cultuur, die de Deli-tabak dan ook was en is.

In andere cultures in Indonesië is de toepassing van insecticiden veel minder groot. Wel worden ook in de thee- en cacaocultuur verschillende plagen bestreden, als ook in de palmoliecultuur. De wijze waarop in Deli, rupsen of geen rupsen, preventief alles onder de middelen gezet wordt, past men elders niet in die mate toe.

Toen na de oorlog vele nieuwe insecticiden opgeld deden, zijn wij ook in Indonesië daarmee uitgebreide proeven gaan nemen (Ankersmit & Van der Laan, 1951). In dit onderzoek werden de volgende middelen betrokken : DDT, HCH, toxapheen, parathion, terwijl van de vooroorlogse middelen alleen derrispoeder gebruikt werd. In de loop van dit onderzoek, dat zich over een drietal jaren uitstrekte, kwam naar voren, dat in deze warme, tropische laagvlakten, in enige gevallen de beste resultaten niet, zoals a priori te verwachten was, met DDT bereikt werden, maar dat toxapheen bepaald betere uitkomsten gaf.

Toxapheen is een product van de Hercules Powder Cy, U. S.A. Het is een mengsel van gechloreerde camphenen, empirische formule $C_{10}H_{10}Cl_8$, waarvan de structuurformule nog niet zeker bekend is. Het bevat 67-69% chloor. De geelachtige, wasachtige vaste stof heeft een zeer zwakke terpeen-geur en smelt bij 65-95° C. Het is zeer weinig vluchtig, onoplosbaar in water, goed oplosbaar in diverse organische oplosmiddelen. De directe giftigheid is betrekkelijk groot, van de orde van die van rotenon. De L.D.-50 bij orale toediening is 60 mg/kg. Ter vergelijking diene : methoxychloor 7000, DDT 250, lindaan 125, parathion 3,5. Onder de gechloreerde koolwaterstoffen, die als insecticiden gebruikt worden, heeft het de grootste directe giftigheid. Het gevaar voor chronische vergiftiging is echter bij toxapheen het geringst. In het algemeen is bij de toepassing van spuit- en stuifmengsels van toxapheen het aanraken daarvan door de huid van hogere dieren niet gevaarlijk, ofschoon bij bespreking van de toepassing tegen klerenluis (*Pediculus*) toch een gering gevaar voor giftigheid op de huid wordt gemeld.

Beschadigingen van planten door toxapheen zijn een enkele maal geconstateerd, en wel bij een enkel pruime- en pereras, zodat de bestrijding van zaagwespen (Hoplocampidae) in Duitsland ermee wordt afgeraden.

In de grond wordt toxapheen betrekkelijk snel ontleed, de kans op schade aan volgende gewassen door residu-werking is

dan ook gering. Een groot practisch belang heeft de geringe giftigheid voor bijen : per mu-gram oraal per bij is de gemiddelde LD voor toxapheen 22,0, voor DDT 4,6, aldrin 0,25, HCH 0,15 en parathion 0,07. Ook voor contact met toxapheen bleken bijen uitzonderlijk ongevoelig te zijn. Wanneer het dus beslist nodig is, tijdens de bloei behandelingen toe te passen, b.v. bij koolzaad, komt toxapheen in aanmerking.

Ik zal mij onthouden van een lange opsomming onder de parasieten van planten en dieren, waarvoor toxapheen al of niet in aanmerking komt om toegepast te worden. In onze omgeving is het gebruik ervan niet groot. Behalve, voor het geval bijen in het spel zijn, biedt het hier in het algemeen geen speciale voordelen boven DDT of lindaan, of de aldrin-dieldrin-endrin groep, en zeker niet boven de organische phosphorverbindingen. Een des te groter omvang heeft de toepassing in warmere streken : tegen het zeer uiteenlopend gezelschap insectensoorten, dat de katoencultuur in de zuidelijke Verenigde Staten belaagt, is toxapheen een zeer goed en veelzijdig middel bleken te zijn. Als middel ter bestrijding van sprinkhanen in subtropen en tropen wordt het gebruikt. Tegen diverse dierlijke parasieten, speciaal alweer in tropische landen, zoals b.v. tegen teken op vee (*Boophilus* Spp.) heeft het practische betekenis. Van weinig belang is het voor de muggen- en vliegen-verdelging.

Terwijl toxapheen een uitstekend middel is tegen de ,,boll weevil'' (*Anthonomus grandis* Boh.) van de katoen, zal men niets vernemen omtrent bestrijding van bloesemkevers van het fruit (*A. pomorum* L. of *A. pyri* Koll.) met dit middel! Terwijl de ,,Mexican bean beetle'', het haantje *Epilachna varivestis* Muls., met toxapheen bestreden wordt, zal men er hier geen elzen- of wilgenhaantjes mee behandelen. Verschillende soorten boorderrupsen in het suikerriet (o.a. de Pyralide *Diatraea saccharalis* Fabr.) zijn bij uitstek gevoelig voor toxapheen; de meer noordelijk voorkomende maisboorder (*Pyrausta nubilalis* Hb.) wordt er niet mee bestreden. Evenmin hoort men van toxapheen bij de bestrijding van bladwesplarven (*Diprion*-soorten), de grote vijanden van de bossen in de noordelijke streken. Deze groep treedt in de tropen zeer weinig op de voorgrond. Bij naverwante soorten is dus in warme streken toxapheen wel bruikbaar, in gematigde streken niet.

Thans wil ik enige resultaten uit eigen onderzoek vermelden. Een ernstige plaag in de jonge kiemplanten van sojabonen op Java en Sumatra is het katjangvliegje *Agromyza phaseoli* Coq. De eieren worden gelegd op de cotylen, de larve mineert door blad en stengel naar de wortelhals en verpopt aldaar. Jonge planten sterven er meestal door af. Bestrijding bleek mogelijk, door de plantjes, direct na het boven de grond komen, driemaal, met tussenpozen van

telkens 4 dagen te bespuiten. Vergelijkende proeven met DDT, HCH, Derrispoeder en toxapheen hadden tot resultaat, dat de beste resultaten bereikt werden bij gebruik van laatstgenoemd middel (tabel 1), waarbij opgemerkt dient te worden, dat toxapheen

TABEL I

Veldproef met het katjangvliegje; Aantal planten per object : 2500
(Field experiment with the soybean fly, Agromyza phaseoli Coq.; number of plants per series : 2500)

Behandeling (*Treatment*)	Aantal behandelingen (*number of treatments*)	% gezonde planten (*% healthy plants*)
DDT 0.05%, bespoten (*spray*)	7	62
Toxaphene 0.12%, bespoten (*spray*)	7	97
Toxaphene 0.12%, bespoten (*spray*)	3	95
Toxaphene 10%, gestoven (*dust*)	7	99
Toxaphene 10%, gestoven (*dust*)	3	97
Onbehandeld (*check*)	0	50

steeds bij iets hogere concentratie gebruikt werd dan de andere middelen.

Ook bij een proef tegen thrips in gladiolen (*Taeniothrips simplex* Mor.), kon mijn toenmalige medewerker Ankersmit de beste werking constateren bij toxapheen (Tabel 2).

TABEL II

Proef met de Gladiolen thrips (naar Ankersmit)
(Experiment with gladiolus thrips, Taeniothrips simplex)

Behandeling (*Treatment*)	Aantal thripsen op 30 bloemen (*Number of insects on 30 flowers*)
DDT stuifpoeder 5% (*dust*)	104
HCH stuifpoeder 5% (*dust*)	36
Toxaphene stuifpoeder 5% (*dust*)	23
Venetan 1% (nicotine prep.) (*spray*)	335
DDT W.P. 0.1% (*spray*)	109
HCH W.P. 0.1% (*spray*)	31
Toxaphene W.P. 0.1% (*spray*)	26
Onbehandeld (*check*)	498

De meest frappante resultaten werden echter in een grote serie veldproeven bereikt tegen rijstboorders (*Scirpophaga innotata* Wlk. en *Schoenobius bipunctifer* Wlk.). Deze vlinders, die tot de Pyraliden behoren, leggen hun eieren in hoopjes op de jonge rijst, die nog op de zaadbedden staat. De bestrijding moet gericht zijn tegen de zeer jonge rupsjes, die nog bereikbaar zijn, totdat ze ongeveer 10 dagen oud zijn. Daarna boren ze zich in.

Bij elke proef (Van der Laan, 1951) beschikten wij over 30 stroken van zaadbedden van 15 bij 1 meter. Hierover werden 5 verschillende behandelingen, elk dus 6-maal herhaald, willekeurig verdeeld. Op 3 verschillende plaatsen in Midden-Java werden 9 van dergelijke proeven genomen. Om niet afhankelijk te zijn van de natuurlijke infectie van de boorders, werden de proefvakken kunstmatig geinfecteerd met 100 eihoopjes per vak, waartoe afgeplukte blaadjes met eihoopjes horizontaal op de harten der rijstplantjes werden gelegd.

Steeds werd tweemaal bespoten, en wel resp. 3 en 10 dagen na de infectie. De eieren komen nl. na 3 dagen uit. Het resultaat werd beoordeeld door van elk vak 30 dagen na de laatste behandeling 200 plantjes uit het midden, willekeurig uit te trekken en daaraan het percentage aangetaste planten te bepalen. In de meeste proeven werd gespoten met een rugpulverisator met wettable powders van DDT, verdund tot 0,07%, van toxapheen, verdund tot 0,12%, met DDT-emulsies op basis 0,04% DDT en derrispoeder met 13,3% rotenon, 0,2%. De resultaten zijn in tabellen 3-5 samengebracht.

TABEL III

Bestrijding van rijstboorders met bespuitingen van insecticiden te Ketanggungan (I t/m V) en Tjepiring (VI t/m IX) in 1949

(Control of rice borers with insecticide spraying on Ketanggungan (I to V incl.) and Tjepiring (VI to IX incl.) in 1949)

Insecticide	Nummer en datum proef. (*No. and date experiments*)								
	I 26/10	II 6/11	III 10/11	IV 21/11	V 24/11	VI 26/11	VII 26/11	VIII 28/11	IX 29/11
Gesarol (DDT) emulsie 0.04%	5.7	5.2	5.2	11.0	11.7	9.3	8.0	19.8	17.3
Controle (*check*)	20.3	20.5	25.8	23.6	24.9	19.1	20.8	40.5	49.0
Ditrene W.P. (DDT) 0.07%	7.7	9.0	6.3	8.8	15.3	13.6	7.2	29.5	22.5
Toxaphene 0.12%	3.0	2.9	3.9	8.0	11.0	3.3	6.2	4.3	4.5
Derris 0.2%	4.1	5.6	6.9	14.7	16.0	13.8	15.8	27.8	17.8

De cijfers geven het gemiddeld percentage aantasting.
(*The figures show the medial percentage of damage*).

TABEL IV als TABEL III (TABLE IV as TABLE III)

Tjepiring (Tjepiring)

Insecticide	Tjepiring X 26/12
Derris-stuifmengsel 1:9 (*Derris dusting mixture*)	46
Controle (*Check*)	58
Toxapheen-stuifmengsel 1:1 (5%) (*Toxaphene dusting mixture*)	42
Toxapheen W.P. 0.12% (*Toxaphene spray*)	21
Derris-spuit 0.2% (*Derris spray*)	53

TABEL V als TABEL III (TABLE V as TABLE III)

Tjepiring (Tjepiring)

Insecticide	Tjepiring XI
Parathion 0.2% (*spray*)	12
Controle (*Check*)	47
Hexyclan-spuit (HCH) 0.5% (*BHC spray*)	29
Toxapheen W.P. 0.12% (*spray*)	24
Derris-poeder 0.2% (*Derris-spray*)	45

Het is duidelijk, dat de werking van toxapheen onder deze omstandigheden het beste is geweest. Later werden meer proeven genômen met parathion, 0,2%, waarbij de werking van alle tot dusver genoemde middelen overtroffen werd. De grote giftigheid van dit middel maakte echter het gebruik in de practijk aldaar onmogelijk. De proeven met bestuiving met poeders hadden veel minder goed resultaat.

Het is dus wel duidelijk, dat in warmere streken toxapheen betere resultaten geeft als in de gematigde regionen. Nu is het reeds lang bekend, dat DDT een zogenaamde negatieve temperatuurcoëfficient bezit, d.w.z. dat de werking van dit middel bij hogere temperatuur afneemt. Men heeft dit in verband gebracht met de veronderstelde werking van DDT op de lipoide bestanddelen der weefsels van de insecten, welke lipoiden bij hogere temperatuur meer DDT aan zich zouden binden dan bij lagere. Bij hogere temperatuur zou dus minder DDT doordringen tot kwetsbare organen, meer in het bijzonder de cellen van het zenuwstelsel. Bij toxapheen is het juist andersom : daar is de werking, ook bij proeven in vitro, bij hogere temperatuur groter. In dit verband kunnen wij wijzen op de uitkomsten van G a i n e s & D e a n (1949) in hun onderzoekingen met de „boll weevil"

(*Anthonomus grandis* Boh.). Zij vonden duidelijk, dat bij hoge temperatuur en vochtigheid de werking van DDT, HCH en chloordaan geringer werd, zodat ze bij deze omstandigheden een 20% hogere dosering aanbevelen; de invloed van deze omstandigheden op toxapheen was veel geringer. Bijzonder overtuigend zijn thans in dit verband de recente onderzoekingen van Mistric & Martin (1956). Zij onderzochten HCH, heptachloor, dieldrin, aldrin, parathion en toxapheen en gebruikten wederom katoeninsecten : *Anthonomus grandis* en *Alabama argillacea* Hb, de ,,cotton leaf worm'', rupsen van een Noctuide. De invloed van diverse weersomstandigheden op de werking van de insecticiden werd nagegaan, waarbij zeer extreme omstandigheden geschapen werden : felle zonneschijn, zware regenval en hoge temperatuur. Onder deze omstandigheden bleek toxapheen zich van alle onderzochte middelen het minste hiervan aan te trekken. Steeds bleken de residuaire nawerkingen van toxapheen verreweg het grootst te zijn.

Hoewel er over het hoe en waarom van de werking der insecticiden onder diverse omstandigheden nog veel in het duister verkeert, begint er dus, wat betreft toxapheen, enig licht in te komen : Dit middel heeft kennelijk enige eigenschappen, die het meer geschikt maken voor het gebruik in de tropen dan voor dat in gematigde streken.

SUMMARY

The use of the insecticide toxaphene at tropical conditions

Experiments with various insecticides (DDT, BHC, Parathion and Toxaphene) on different agricultural pests at Java (Indonesia) gave unexpected good results with toxaphene (chlorinated camphene), which in most cases surpassed those with DDT. As it is known for some time that DDT has a negative temperature coefficient, thus acts better at lower than at higher temperatures, these findings were already partially clear. However, investigations at the U.S.A. of Mistric et al. showed moreover that toxaphene residues are highly resistent to severe wheather conditions. Experiments, including BHC, heptachlor, aldrin, parathion and toxaphene, were done with cotton insects. Series, exposed to showers, or fierce sunshine, or high temperatures, were compared with those under more natural conditions. The residual effect under such -certainly much alike to tropical- circumstances was by far the best practized if toxaphene was used.

LITERATUUR

ANKERSMIT, G. W. & VAN DER LAAN P. A. (1951). — Resultaten van proeven met insecticiden ter bestrijding van insectenplagen in de landbouw in Indonesië. *Landbouw (Bogor)* 23 : 423-484.

BUSSY, L. P. DE, (1906). — Schweinfürter groen. — *Med. Deliproefstation* 1 : 115.

GAINES, J. C. & DEAN, H. A. (1949). — Effect of Temperature and Humidity on the toxicity of Certain Insecticides. *J. econom. Entomol.* 42 : 429-433.

MISTRIC, W. J. & MARTIN, D. F. (1956). — Effect of Sunlight and Other Factors on the Toxicity of Certain Insecticides. *J. econom. Entomol.* 49 : 757-760.

LAAN, P. A. VAN DER, (1950). — Over de bestrijding van het katjang-vliegje op kedelee met insecticiden. *Med. Alg. Proefst. Landb. Buitenzorg* 98 : 1-28.

LAAN, P. A. VAN DER, (1951). — De mogelijkheden van bestrijding der rijstboorders. *Landbouw (Bogor)* 23 : 295-356.

J. R. Pootjes, Den Haag, Nederland

V : 1) Worden door toxapheen zowel de rijstboorders Scirpophaga als Schoenobius in de rijst bestreden?
2) Wordt behalve Diatraea saccharalis ook de topboorder bestreden?

A : 1) Ja, beide soorten zijn even gevoelig.
2) Omtrent de bestrijding van de topboorders in het suikerriet met toxapheen heb ik geen gegevens beschikbaar.